Tome 40 1976. Fascicule 1

REVUE DE MYCOLOGIE

Directeur Roger HEIM Membre de l' Institut

LABORATOIRE DE CRYPTOGAMIE
MUSÉUM NATIONAL D' HISTOIRE NATURELLE
12 rue Buffon, 75005 PARIS

Ouvrage publié avec le concours du Centre National de la Recherche Scientifique

Publication trimestrielle

Source : MNHN, Paris

SOMMAIRE

TRAVAUX ORIGINAUX

A. BELLEMERE & L.-M. MELENDEZ-HOWELL. – Étude ultrastructurale comparée de l'ornementation externe de la paroi des ascospores de deux Pezizales : *Peziza fortini* n. sp., récoltée au Mexique, et *Aleuria aurantia* (Oed. ex Fr.) Fuck. 3

M. J. CHARPENTIÉ. – Action d'une protéase extraite de *Streptomyces fradiae* sur la microflore de différents substrats naturels 21

R. WATLING. – Observations on the Bolbitiaceae XV. The taxonomic position of those species of *Conocybe* possessing ornamented basidiospores 31

R. BERTAULT. – *Typhula ilicis* Bertault 39

S. SOKOLSKI, Y. PICHE, O. REISINGER & G. KILBERTUS. – Décomposition des spores de *Coprinus atramentarius* Bull. ex Fries enfouies dans le sol. Étude ultrastructurale 43

J. BALAZUC. – Quelques cas tératologiques observés chez les Laboulbéniales (Ascomycètes) 51

R. SINGER. – Amparoinaceae and Montagneaceae 57

K. B. KHARE & G. BOMPEIX. – Activités protéolytiques de *Sclerotinia sclerotiorum* et *S. minor* : rôle possible lors de la pathogenèse 65

o
o o

Un vieux livre oublié, par G. Becker 85

Le Commandant Lignier, peintre de champignons, par M. Josserand 89

Remarques sur la thèse de Doctorat de Monsieur Jacques Fayret, par M. Chadefaud 93

o
o o

Analyses bibliographiques 95

Les manuscrits doivent être adressés à Madame M. F. ROQUEBERT, Laboratoire de Cryptogamie, 12 rue de Buffon, 75005 Paris.

Source : MNHN, Paris

REVUE
DE
MYCOLOGIE

Directeur : Roger HEIM

TOME QUARANTE
1976

COMITÉ DE LECTURE

MM. BOIDIN J. (Lyon), CAILLEUX R. (Paris), GAMS W. (Baarn, Hollande), JOLY P. (Paris), MANGENOT F. (Nancy), MOUCHACCA J. (Paris), Mme NICOT J. (Paris), M. PEGLER D. N. (Kew, G. B.), Mme PERREAU J. (Paris), Mme ROQUEBERT M. F. (Paris), M. SUTTON B. C. (Kew, G. B.).

ADMINISTRATION : Mme LOCQUIN-LINARD M. et M. ZAMBETTAKIS Ch.

Copyright © 1976. *Revue de Mycologie*

Source : MNHN, Paris

ÉTUDE ULTRASTRUCTURALE COMPARÉE DE L'ORNEMENTATION EXTERNE DE LA PAROI DES ASCOSPORES DE DEUX PEZIZALES : PEZIZA FORTINI n. sp., RÉCOLTÉE AU MEXIQUE, & ALEURIA AURANTIA (OED. EX FR.) FUCK.

par A. BELLEMERE * et L.-M. MELENDEZ-HOWELL **

RÉSUMÉ. — Chez *Peziza fortini* n. sp. du Mexique, les ascospores présentent une ornementation complexe formée d'éléments fusionnés en bandelettes longitudinales, séparant des dépressions allongées creusées de fossettes. La paroi de ces ascospores comporte une «paroi propre» subdivisée en deux couches (A et B) entourée d'une périspore. Celle-ci, également formée de deux couches (C et D), constitue l'ornementation. Elle est revêtue d'une mince ectospore (E). L'architecture de la partie profonde de la périspore est complexe. La comparaison avec les ascospores d'*Aleuria aurantia* et avec les données bibliographiques montre que l'édification des parois des ascospores chez les Discomycètes Operculés s'effectue selon des processus généraux analogues et qu'un même plan structural d'ensemble de la paroi peut être envisagé.

L'étude du *Peziza aurantia* révèle en outre que l'édification de l'ornementation est un phénomène actif avec transfert de matériel depuis l'extérieur de la périspore vers l'intérieur et intervention de certaines régions de l'épiplasme riches en glycogène et en mitochondries.

SUMMARY. — *Peziza fortini* n. sp., from Mexico, has ascospores bearing very complex ornamentation made of wingy formations between elongated areas containing foveas. The ascospores wall is made of a «proper wall» with two layers (A and B) surrounded by a perispore with also two layers (C and D). This perispore, which builds up all the ornementation, is covered by a thin ectospore (E). The structure of the basal part of the perispore is specially complex. A comparison with the ascospores of *Aleuria aurantia* and with bibliographic data reveals that in the Pezizales ascospore walls are built up by similar processus leading to a similar structural scheme. In *Peziza aurantia* the ornementation of ascospores is an active process; materials flow from the external to the internal region of the perispore and the areas of the epiplasm facing ornemental warts contain numerous mitochondrias and glycogene granules.

L'ornementation externe, parfois complexe, que présentent les ascospores de certaines espèces de Pezizales a été étudiée en microscopie photonique (MALENÇON, 1929; CHADEFAUD, 1938, 1940; LE GAL, 1947). Elle n'a fait l'objet que de rares études de microscopie électronique à balayage (*Gyro-*

* Laboratoire de Sciences Naturelles (Mycologie), École Normale Supérieure de Saint-Cloud, 92210 Saint-Cloud, France.

** Laboratoire de Cryptogamie du M.N.H.N., 12 rue de Buffon, 75005 Paris. Équipe de Recherches n° 120, C.N.R.S.

Source : MNHN, Paris

mitra «caroliniana» : MOBERG, 1970; *Gyromitra brunnea* : Mac KNIGHT, 1973; divers *Discina*, *Gyromitra* et *Underwoodia columnaris* : Mac KNIGHT et BATRA, 1974; *Peziza badia* et *badio-fusca* : ELLIOTT et KAUFERT, 1974; plusieurs *Pachyella* : PFISTER, 1975). En microscopie électronique par transmission, seules ont été étudiées des Pezizales à ascospores lisses ou finement granuleuses (*Ascobolus immersus* : DELAY, 1966; *A. viridulus* : OSO, 1969; *A. stercorarius* : WELLS, 1972; *Saccobolus kerverni* : CARROLL, 1969; *Pyronema domesticum* : REEVES, 1967; *Galactinia plebeia* et *Pustularia cupularis* : SCHRANTZ, 1970).

Le présent travail apporte des données ultrastructurales sur l'ornementation ascosporale très complexe d'une espèce récoltée au Mexique et rapportée au genre *Peziza*; cette ornementation est comparée à celle de l'*Aleuria aurantia*.

I. MATÉRIEL ÉTUDIÉ

1. *Peziza fortini* n. sp.

Cette Pézize, récoltée au Mexique par R. HEIM le 18 août 1961 (El Fortin, montée au Cerro Clarin près de Huautla de Jiménez, dans un pré voisinant un champ de maïs, R. HEIM, n° 719) n'a pu être observée qu'après conservation dans l'eau formolée. Sa diagnose est la suivante :

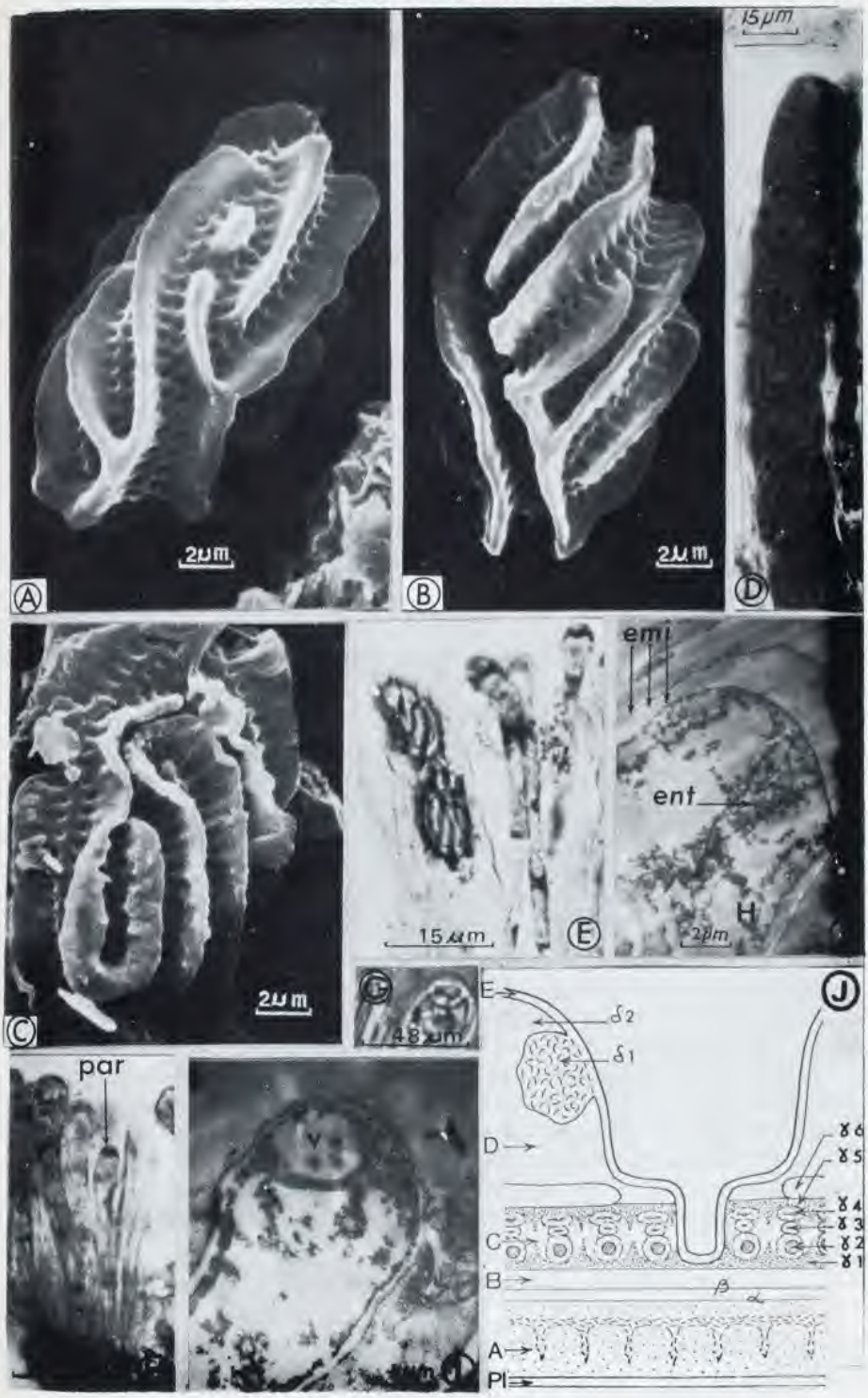
Les réceptacles, parfois agrégés, atteignent jusqu'à 14 mm de diamètre. Ils sont cupulés, sessiles, mais deviennent vite plan convexes. Leur marge est alors profondément ondulée par endroits. Le centre de l'hyménium, d'abord plissé, est sinueux chez les échantillons âgés. Les jeunes exemplaires sont verdâtres pâles (K 177, plus pâle que K 126 et 131), un peu plus clairs en dessous.

Les asques, octosporés, longs, cylindriques, sont un peu amincis à la base et tronqués à leur sommet, qui est faiblement amyloïde : 168-195 (110-130) × 10 (15)μm (Fig. 1, D). Les ascospores elliptiques, 14 (18-20) × 10 (12,5)μm, hyalines et métachromatiques à l'état jeune, montrent, à l'état adulte, deux

Fig. 1. — *Peziza fortini*

A, B, C : Ascospores en microscopie électronique à balayage. — D : Asque en microscopie photonique. Coupe à main levée. Coloration : bleu coton C_4B. — E : Asques et paraphyses en microscopie photonique. Coupe à main levée. Coloration : bleu de toluidine ammoniacal acétylé. L'ornementation alaire des ascospores est bien distincte, les paraphyses présentent une différenciation sommitale. — F : Sommet d'un asque immature (microscopie électronique par transmission, test de Thiéry). (*e*, *m*, *i* : couche externe, moyenne et interne de l'asque; *ent* : entonnoir du tractus; *s* : sinus dans la région périoperculaire). — G : Sommet de paraphyse (microscopie photonique). Coupe à main levée. Coloration : bleu de toluidine ammoniacal acétylé. Remarquer la vacuole subapicale. — H : Groupe de paraphyses (microscopie photonique). Coupe à main levée. Coloration : bleu coton C_4B. (*par* : différenciation du sommet d'une paraphyse). — I : Sommet d'une paraphyse (microscopie électronique par transmission, test de Thiéry. *v* : vacuole subapicale). — J : Interprétation schématique de la structure de la paroi ascosporale. (Pour les légendes, voir le texte).

Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris

guttules lipidiques (bleu BZL +). La paroi est ornementée de bandelettes saillantes plus ou moins anastomosées (Fig. 1, E) dont la base est percée de fovéoles régulièrement alignées. Ces ornementations qui paraissent naître de la confluence de verrues (Fig. 1, D), sont, par endroits, quelque peu colorables par le réactif de Melzer mais elles réagissent fortement sur leur bordure externe où ressortent parfois des points noirs. Elles disparaissent dans l'hypochlorite de sodium. Les paraphyses, 190 (240) × 3µm, généralement ramifiées à la base et parfois au sommet, sont septées. Elles sont un peu recourbées à leur sommet élargi (4-5µm), qui paraît contenir un élément en forme d'anneau un peu déjeté sur le côté (Fig. I, E, G, H).

La chair fragile, cassante, laiteuse, est formée de cellules allongées (68,6 × 13µm en moyenne), disposées en files parfois ramifiées. Elle comporte aussi des cellules globuleuses et des laticifères ramifiés. Le sous-hyménium est à peine plus compact. L'excipulum externe est constitué de cellules subglobuleuses de tailles diverses (60, 30, 15µm) donnant naissance à de longues hyphes externes qui s'enfoncent dans le substrat et dont les parois très épaisses sont souvent revêtues d'aspérités.

Cette espèce appartient au genre *Peziza* par son excipulum de structure complexe, et une certaine réaction amyloïde du sommet des asques (DENNIS, 1968; ECKBLAD, 1968; RIFAI, 1968; KORF, 1973). Par les particularités de l'ornementation sporale, elle paraît nouvelle et nous en faisons la *Peziza fortini* n. sp. Meléndez-Howell et Bellemère (de El Fortin, lieu de collecte des échantillons).

Diagnose :

Carpophori interdum aggregati, usque ad 14 mm lati, cupulati, sessiles, mox plani-convexi, margine tunc alte passim undulata, epithecio medio primum plicato, in vetustate sinuoso, primum pallide viriduli, subter paulo pallidiores. Ascis octosporis, longis, cylindratis, inferne tenuioribus, superne truncatis et apice truncato tenui jodo caeruleo : 168-195 (110-130) × 10 (15)µm. Sporis ellipsoideis 14-(18-20) × 10-(12,5)µm, hyalinis, in juventute metachromaticis, 2-guttulatis, alis magis minusve anastomosis et ipsis foveolis perforatis, confluentia verrucarum natis visis. Paraphysibus 190-(240) × 3µm, 2-3-ramosis, modo inferne, modo superne, summis ad 4-5µm dilatatis, paulum curvatis, corpusculo forma anuli, paulum obliquo praeditis. Carne fragili, lactescente, e cellulis elongatis, plerumque 68 × 13µm, in ordinibus dispositis, interdum ramosis, atque cellulis rotundis laticiferisque ramosis constante; subhymenio vix compactiore; excipulo e cellulis subglobosis, magnitudine variis (60, 30, 15µm) constante, quae producunt longas hyphas exteriores in substratum penetrantes, tunica crassissima, saepe asperulata. – In prato, apud agrum Maydis.

2. *Aleuria aurantia*

Les échantillons ont été récoltés au Nord de Sainte-Gemme en forêt de Marly (près de Paris) le 21 septembre 1970.

Source : MNHN, Paris

II. TECHNIQUES UTILISÉES

A. – Microscopie électronique à balayage : méthode à l'or-palladium pour la métallisation; observations effectuées au Laboratoire de Géologie du Muséum. *

B. – Microscopie électronique par transmission : pour *Peziza fortini* le matériel, qui était conservé en solution formolée, a été soigneusement rincé au tampon cacodylate (pH 7,5) et inclus dans l'araldite; les coupes ont été colorées par la technique de THIERY (1967) et observées à l'E.N.S. de Saint-Cloud sur un microscope JEOL JEM 7 sous une tension de 80 Kv.

Pour l'*Aleuria aurantia* le matériel frais a été fixé au glutaraldéhyde à 4% dans le tampon cacodylate à pH = 7,5, post-fixé par OsO_4 à 2% dans le tampon véronal, inclus dans l'araldite. Les coupes ont été contrastées à l'acétate d'uranyl-citrate de plomb ou colorées par la technique de THIERY (1967).

III. RÉSULTATS

A. *Peziza fortini*

1. LES SOMMETS DES PARAPHYSES

L'examen en microscopie électronique par transmission permet de constater que la particularité de structure perceptible en microscopie photonique au sommet des paraphyses correspond à une condensation cytoplasmique locale, autour d'un élément sphérique de nature vacuolaire (Fig. 1, I). L'état de conservation du matériel ne permet pas de préciser davantage. Il ne s'agit donc pas d'une structure qui serait homologue de l'appareil apical de certains asques ou du «Spitzenkörper» de l'apex de filaments mycéliens de certains Champignons. Il faut remarquer que cette vacuole est un peu déjetée latéralement par rapport au sommet de la paraphyse.

2. LA PARTIE SOMMITALE DES ASQUES (Fig. 1, F)

Les asques relativement jeunes ont une paroi épaissie à leur sommet, sur l'emplacement futur de l'opercule. Cet épaississement est constitué par la plus profonde des trois couches de la paroi, dont l'aspect est gris pâle après la coloration de THIERY. L'épaisseur des deux couches plus externes, l'une très claire et l'autre d'aspect sombre, n'est pas modifiée. Un sinus peu profond, mais distinct, indique probablement la région où se fera la déhiscence.

Dans le cytoplasme sous-operculaire de l'asque on peut observer «l'entonnoir fibreux» décrit en microscopie photonique par CHADEFAUD (1942, 1973)

* Nous remercions M. le Professeur LAFFITTE et Melle D. NOEL qui nous ont permis d'utiliser le microscope électronique à balayage de leur Laboratoire, ainsi que M. J.P. BOSSY, chargé d'en assurer le fonctionnement.

Source : MNHN, Paris

chez plusieurs Operculés. Cet entonnoir, d'aspect fibrilleux sur ses bords, est constitué de petites vacuoles en amas dense.

3. ULTRASTRUCTURE DE LA PAROI DES ASCOSPORES ADULTES

a) Microscopie à balayage.

L'ornementation de la paroi des ascospores est constituée par des bandelettes saillantes légèrement sinueuses, parfois anastomosées (Fig. 1, A, B, C). Chaque bandelette est flanquée à sa base d'une file de fossettes. Les fossettes de deux bandelettes voisines sont en alternance régulière. Chacune des fossettes s'ouvre au fond d'un sinus peu profond disposé transversalement par rapport à la bandelette. Chaque rebord de sinus constitue ainsi un petit contrefort au pied de la bandelette, entre deux fossettes successives d'une même file. Les bandelettes proviennent de la confluence de protubérances pariétales disposées en files. A notre connaissance une ornementation d'un type aussi complexe n'a jamais été observée chez les ascospores des Pezizales.

b) Microscopie par transmission.

Au niveau d'une bandelette ornementale, la paroi d'une ascospore, à l'extérieur du plasmalemme sporal, qui réagit fortement au test de Thiéry, est constituée d'un certain nombre de strates qui sont les éléments des quatre couches pariétales, que nous désignons, pour l'instant, et par commodité, par les lettres A, B, C, D (Fig. 1, J et Fig. 2, A).

La couche plus profonde (*couche A*), assez épaisse, est peu riche en polysaccharides (Fig. 2, A). Elle peut être subdivisée, de l'intérieur vers l'extérieur, en trois sous-couches. La sous-couche basilaire est constituée de fins granules peu réactifs au test de Thiéry. La sous-couche moyenne, la plus importante, est formée de sphérules transparentes dont le centre est occupé par un granule plus opaque de forme irrégulière. Çà et là, ces granules sont disposés confusément en empilements radiaires ébauchant une grossière striation transversale; vers son sommet cette sous-couche est un peu plus riche en polysaccharides. La sous-couche externe, plus finement granuleuse, paraît dépourvue de sphérules; sa limite avec la sous-couche précédente n'est ni tranchée ni régulière.

Au contact entre la couche A et la couche B, une mince strate α, finement granuleuse, riche en polysaccharides, forme une sorte de liseré sombre (Fig. 2, A).

La *couche B* est bien distincte car sa trame, très fine, ne réagit pas au test de Thiéry (Fig. 2, A). C'est une couche assez mince, subdivisée en deux sous-couches d'aspect clair et d'épaisseurs inégales par une mince strate β, riche en polysaccharides.

La *couche C*, surmontant la couche B, est assez peu épaisse. Sa structure est complexe. On peut y distinguer, de l'intérieur vers l'extérieur, six sous-couches γ 1 à γ 6 (Fig. 2, A). La sous-couche γ 1, mince, dense, finement granuleuse réagit au test de Thiéry. Au-dessus d'elle, la sous-couche γ 2 est

Source : MNHN, Paris

formée de nodules pyriformes d'aspect clair à centre plus dense (Fig. 2, D); ces nodules, disposés côte à côte en une strate régulière quand la spore est adulte, sont comme sertis dans un ensemble de fins granules riches en polysaccharides (Fig. 2, A), qui dessinent un réseau, à mailles sphériques de tailles inégales, bien visible sur les coupes tangentielles (Fig. 2, E) ou obliques (Fig. 2, F).

La sous-couche γ 3 qui surmonte la précédente est constituée de nodules d'aspect clair et de formes irrégulières, allongés tangentiellement.

A l'extérieur de la sous-couche γ 3, la sous-couche γ 4 a une structure analogue à celle de la sous-couche γ 2. Elle est formée de nodules clairs, moins élevés et plus allongés que ceux de la couche γ 2; eux aussi sont enserrés par de nombreux petits granules riches en polysaccharides.

La sous-couche γ 5, mince, de structure fine, d'aspect dense et sombre, est formée uniquement de granules polysaccharidiques analogues à ceux de la couche sous-jacente.

Enfin la sous-couche γ 6, assez épaisse et bien distincte, apparaît sur les coupes comme une bande gris pâle à texture très fine. Elle représente peut-être, en fait, l'extrême base de la couche D de la paroi.

La *couche D*, très développée, constitue la plus grande partie des bandelettes qui ornent la paroi sporale (Fig. 2, B et C). Par endroits sa texture est très grossière et elle est alors constituée de petits nodules contigus, de formes diverses, dont seule la partie centrale contient des polysaccharides. Ailleurs, au contraire, la couche D présente un aspect homogène et réagit uniformément au test de Thiéry. La limite entre les aires homogènes et noduleuses de la paroi est toujours irrégulière (Fig. 2, B).

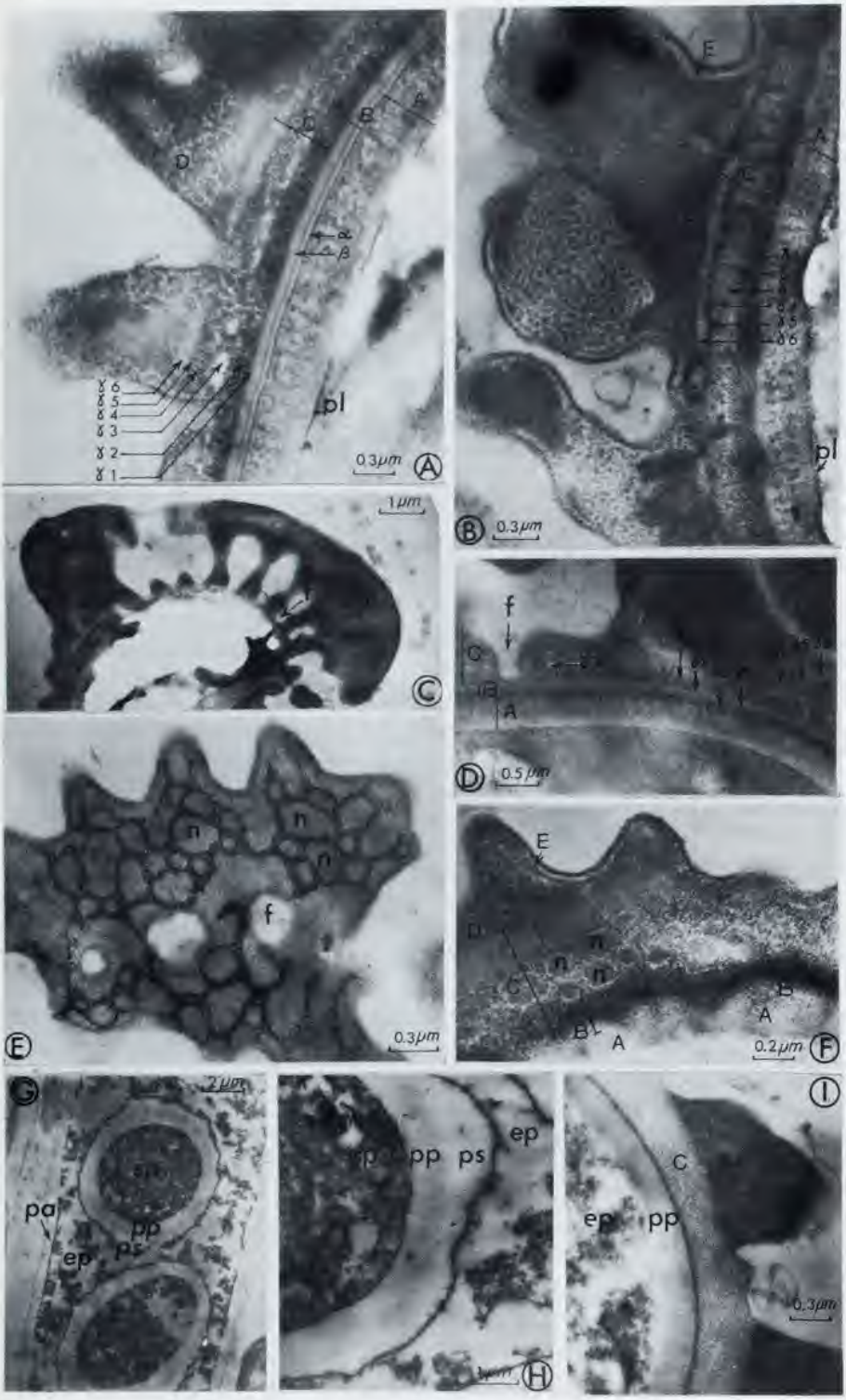
Enfin, la couche la plus superficielle de la spore, *couche E* (Fig. 2, B et F), n'est qu'un mince revêtement, d'analyse difficile car il est le plus souvent sectionné obliquement lors des coupes en raison des irrégularités de la surface d'ornementation. Ce revêtement comporte probablement une strate externe riche en polysaccharides, doublée intérieurement d'une strate qui en est dépourvue.

Au niveau d'une fossette de l'ornementation (Fig. 2, D) les couches A et B de la paroi ne sont pas modifiées, mais la couche C, très amincie, se réduit à sa sous-couche la plus profonde γ 1. La couche D est absente, ainsi, peut-être, que la couche E. Pour cette dernière on ne peut être affirmatif faute d'avoir rencontré un nombre suffisant de coupes passant exactement par l'axe d'une fossette.

4. ONTOGÉNIE DE LA PAROI DES ASCOSPORES

Quelques données concernant l'ontogénie de la paroi des ascospores ont pu être recueillies en dépit de la faible quantité de matériel disponible. La terminologie utilisée ici reprend celle qui a été présentée dans un précédent article

Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris

concernant des Discomycètes Inoperculés (BELLEMERE, 1975).

Le *stade primordial* (mince paroi transparente aux électrons, comprise entre deux membres trilaminaires) n'a pas été observé, mais on a rencontré le *stade primaire* (paroi épaisse, transparente et homogène) ainsi que le *stade secondaire* où la paroi se subdivise en deux couches superposées (Fig. 2, G et H); la plus interne de ces couches, future «paroi propre de la spore» se distingue à sa légère réaction positive au test de Thiéry; la plus externe, claire, ou «périspore» est déjà délimitée vers l'extérieur par une très mince couche sombre, riche en polysaccharides.

Ultérieurement, au *stade tertiaire* du développement (Fig. 2, I), une mince strate riche en polysaccharides qui correspond probablement à la future couche γ 1, sépare la «paroi propre de la spore» de la «périspore». Celle-ci s'est alors subidvisée en deux couches, l'une interne et claire (future couche C); l'autre externe et discontinue plus riche en polysaccharides (future couche D).

Plus tard (Fig. 3, A et B), une strate un peu plus dense apparaît à l'intérieur de la «paroi propre de la spore». Elle correspond sans doute à la couche polysaccharidique α, définie plus haut, qui sépare les couches A et B de la paroi. Au cours des stades suivants, antérieurs au stade adulte, qui ont été rarement observés (Fig. 2, B), les modalités de développement de la fine zonation de la couche B n'ont pu être précisées. Il semble que les aires noduleuses de la couche D proviennent d'une différenciation des plages homogènes de cette couche. La couche E, qui n'a pas été repérée antérieurement, faute peut-être de coupes bien orientées, est maintenant bien visible.

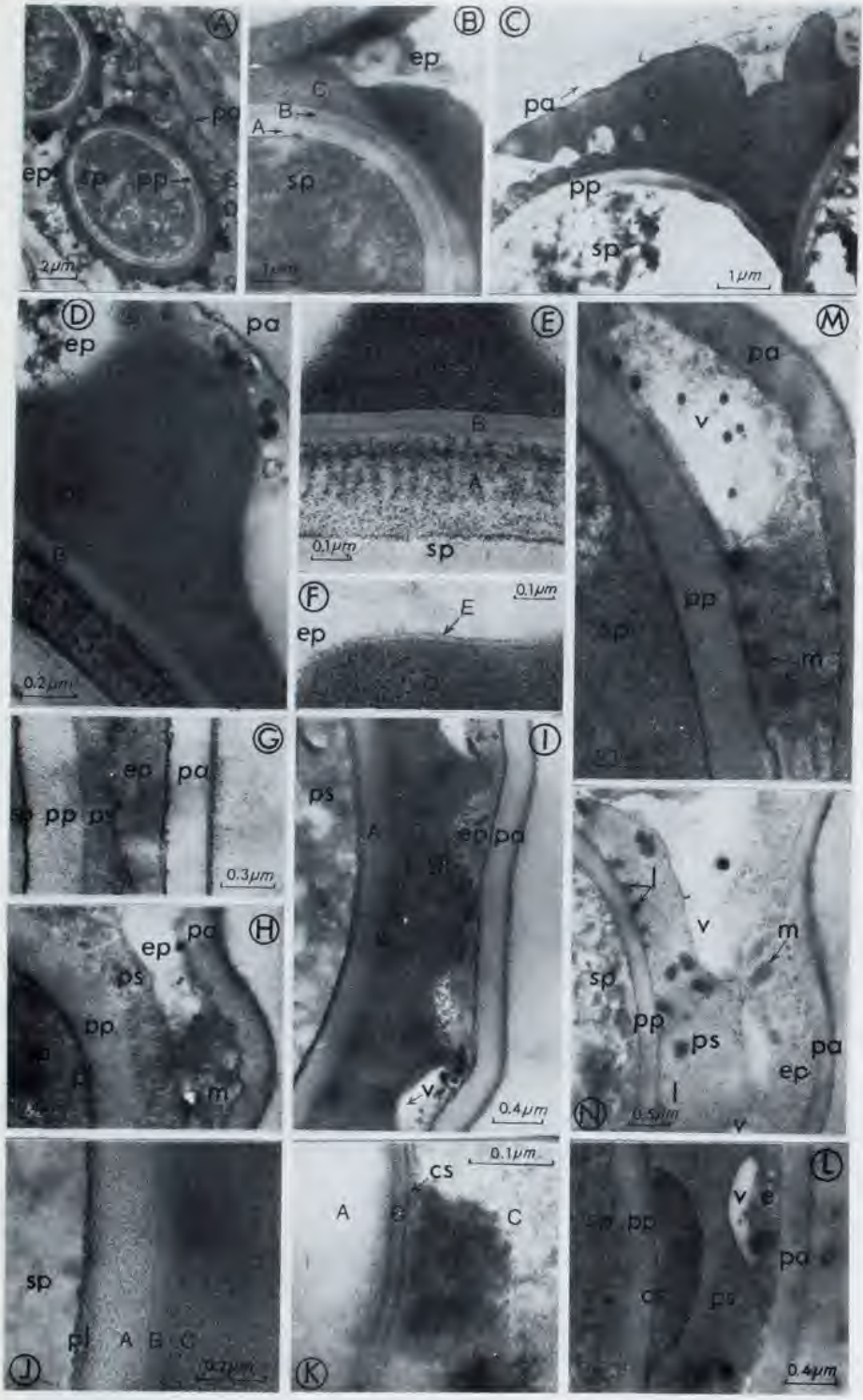
Il arrive qu'accidentellement les périspores de deux spores voisines soient confluentes (Fig. 3, C), mais alors les parois propres des spores (formées des deux couches A et B) restent parfaitement distinctes. C'est là un argument en faveur d'une individualisation précoce de la paroi propre de la spore et de la périspore.

Fig. 2. — *Peziza fortini* (microscopie électronique par transmission, test de Thiéry).

A : Paroi d'une ascospore adulte en coupe transversale. — B : Paroi d'une ascospore subadulte en coupe transversale. C : Coupe d'une ascospore mûre montrant la confluence des éléments d'ornementation. — D : Coupe transversale d'une ascospore mûre passant par l'axe d'une fossette. — E : Coupe tangentielle dans la paroi d'une ascospore mûre passant au niveau de la base de la périspore (dans la sous-couche γ 2 de la couche C). Observer la disposition en réseau des polysaccharides autour de zones plus claires *n*, correspondant à des nodules. — F : Coupe oblique dans la paroi d'une ascospore non encore mûre passant au niveau de la base de la périspore (probablement dans la sous-couche γ 2 de la couche C; les zones plus claires *n*, correspondent aux nodules de cette couche). La coupe passe en dehors d'une zone pourvue de fossettes. — G : Stade secondaire de différenciation de la paroi. — H : Détail de la figure G. — I : Stade tertiaire de la différenciation de la paroi.

(A, B, C, D, E : couches de la paroi ascosporale; *ep* : épiplasme de l'asque; *f* : fossette dans l'ornementation de la paroi ascosporale; *n* : nodules de la couche C de la paroi ascosporale; *orn* : ornementation en relief de la paroi ascosporale; *pa* : paroi de l'asque; *pl* : plasmalemme; *pp* : paroi propre de la spore; *ps* : périspore; *sp* : sporoplasme; α : limitante externe de la couche A de la paroi de l'ascospore; β : sous-couche riche en polysaccharides dans la couche B de l'ascospore; γ 1, γ 2, γ 3, γ 4, γ 5, γ 6 : sous-couches de la couche C, voir le texte).

Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris

B. *Aleuria aurantia*

1. ULTRASTRUCTURE DE LA PAROI DES ASCOSPORES ADULTES

L'ultrastructure de la paroi des ascospores adultes de l'*Aleuria aurantia* présente des analogies avec celle de la paroi des ascospores de *Peziza fortini* (Fig. 3, D). On observe, ici aussi, une «paroi propre de la spore» formée des deux mêmes couches A et B (Fig. 3, E). Toutefois chez l'*Aleuria* la périspore ne comporte qu'une seule couche. Par sa texture et sa richesse en polysaccharides celle-ci correspond sans doute à la couche D de *Peziza fortini*. Une couche E, discrète, est incontestablement présente (Fig. 3, F).

2. ONTOGÉNIE DE LA PAROI DES ASCOSPORES

Au cours du développement, on observe d'abord un «*stade primaire*» (Fig. 3, G), puis un «*stade secondaire*» (Fig. 3, H) analogues à ceux mentionnés plus haut chez *Peziza fortini*. Au «*stade tertiaire*», s'individualisent les couches A et B de la paroi propre de la spore. Les modifications de la périspore méritent de retenir l'attention. Tandis que le contour externe de celle-ci devient sinueux, on voit apparaître dans la périspore de petits globules sphériques irrégulièrement dispersés (Fig. 3, I, J et N). La nature chimique du contenu de ces globules, sans doute complexe, reste à préciser. Ils renferment certainement des lipides

Fig. 3. — *Peziza fortini* (microscopie électronique par transmission).

A : Stade tertiaire du développement de la paroi. Différenciation d'une couche réactive au test de Thiery dans la paroi propre de la spore. — B : Détail de la précédente. — C : Confluence de la périspore de deux ascospores voisines. La coupe met en évidence la couche C (coloration : acétate d'uranyle et citrate de plomb).

Aleuria aurantia (microscopie électronique par transmission).

D, E : Structure de la paroi d'une ascospore adulte (test de Thiéry). — F : Présence d'une ectospore (couche E, test de Thiéry). — G : stade secondaire de développement de la paroi ascosporale (test de Thiéry). La paroi de l'asque montre trois couches dont la plus interne est de beaucoup la plus épaisse. — H : Analogue à la précédente (coloration acétate d'uranyle-citrate de plomb). — I : Différenciation de globules probablement en partie lipidiques dans la périspore. Présence de glycogène dans l'épiplasme face aux saillies de l'ornementation (test de Thiéry). — J : Détail de la précédente. — K : Analogue à la précédente (coloration à l'acétate d'uranyle-citrate de plomb). — L : Masse probablement en partie lipidique accolée contre la paroi propre de la spore (coloration à l'acétate duranyle-citrate de plomb). — M : Ébauche de l'ornementation ascosporale : mitochondries (*m*) dans l'épiplasme face à une future saillie de l'ornementation. Région claire, analogue à une vacuole renfermant des précipités, dans une future dépression de l'ornementation (coloration à l'acétate d'uranyle-citrate de plomb). — N : Analogue au précédent mais à un stade plus avancé de différenciation de la paroi.

(A, B, C, D, E : couches constituant la paroi de l'ascospore : *cs* : sous-couche séparant la paroi propre de l'ascospore de la périspore; *ep* : épiplasme; *gl* : glycogène de l'épiplasme; *l* : globules probablement en partie lipidiques, dans la périspore; *m* : mitochondrie; *p. a.* : paroi de l'asque; *p. l.* : plasmalemme; *p. p.* : périspore; *p. s.* : paroi propre de la spore; *s. p.* : sporoplasme; *v.* : vacuole).

Source : MNHN, Paris

car en microscopie photonique ils se colorent par le bleu BZL. De plus leur ultrastructure est analogue à celle des globules lipidiques du sporoplasme des ascospores de divers Discomycètes. Toutefois CHADEFAUD (1940) leur reconnait une nature calloso-pectique. Ces globules correspondent aux «masses périsporiques» observées en microscopie photonique par LE GAL (1947, p. 188) dans la jeune paroi ascosporale de l'*Aleuria aurantia*. Cet auteur considérait ceux-ci comme des éléments épiplasmiques englobés par la périspore au cours de son développement. La microscopie électronique montre qu'en fait ils prennent naissance directement dans celle-ci et n'appartiennent pas à l'épiplasme.

Ultérieurement, au cours de la maturation de l'ascospore, les globules de la périspore viennent se rassembler et confluer à l'extérieur de la couche B. Ils forment alors des masses grossièrement hémisphériques (Fig. 3, K) puis en forme de ménisque (Fig. 3, L). Elles sont bien distinctes après coloration au citrate de plomb mais difficiles à déceler par la technique de THIERY. La face concave de ces masses, tournée vers la couche B de la paroi, en reste cependant séparée par une très mince couche transparente aux électrons. L'existence d'une telle couche, entre la paroi propre de la spore et la périspore, a déjà été observée chez les Discomycètes Inoperculés à spores septées où son intervention dans le cloisonnement, ainsi que son rôle éventuel dans le contrôle des échanges entre la paroi propre de la spore et la périspore a été envisagée (BELLEMERE, 1975).

Faute de matériel suffisamment mûr, le devenir de ces masses périsporales en forme de ménisque n'a pu être précisé quand la spore devient adulte.

Il faut remarquer qu'au cours du développement de l'ornementation, les sommets des protubérances ornementales restent toujours en étroit contact avec l'épiplasme résiduel de l'asque (Fig. 3, D et N). A ce niveau celui-ci est enrichi en mitochondries (Fig. 3, M et N) et en granules polysaccharidiques (Fig. 3, I), sans doute formés de glycogène. Par contre, au niveau des alvéoles de la paroi qui séparent les protubérances ornementales, ce sont des zones transparentes aux électrons, dépourvues de cytoplasme structuré et ne contenant que quelques précipités, qui séparent l'ascospore de l'épiplasme.

IV. DISCUSSION ET CONCLUSIONS

1. La comparaison des données ultrastructurales obtenues ici sur les parois des ascospores de *Peziza fortini* et d'*Aleuria aurantia* montre que le développement de la paroi ascosporale se fait selon un même schéma d'ensemble chez ces deux espèces. Ainsi à un stade primaire, où la paroi a une structure homogène, succède un stade secondaire où la paroi se subdivise en une «*paroi propre de la spore*» du côté interne et une «*périspore*» du côté externe.

Ultérieurement, la paroi propre de la spore se subdivise à son tour en deux couches A et B qui se différencient selon des processus différents, la couche A étant alors constituée de sortes de «piliers» radiaires plus ou moins granuleux,

Source : MNHN, Paris

alors que la couche B, finement zonée, comporte au moins une strate mince dense aux électrons (sous-couche β).

Parallèlement l'aspect de la périspore se modifie. On voit s'y développer des protubérances qualifiées en microscopie photonique de «pustules» (CHADEFAUD 1940) ou de «calottes» (LE GAL 1947). Ces protubérances s'anastomosent ensuite en formant un réseau alvéolaire chez *Aleuria aurantia*, et des bandelettes chez *Peziza fortini*. Chez cette dernière la périspore se subdivise alors en deux couches distinctes C et D, alors que chez l'*Aleuria aurantia* la couche C ne s'individualise pas.

Quant à la couche E, mince pellicule superficielle présente chez les deux espèces étudiées ici, son mode de développement n'a pu être suffisamment étudié. Il n'est donc pas assuré qu'elle ait nécessairement la même signification dans les deux cas.

2. Les homologies faites entre les diverses couches de la paroi des ascospores chez *Peziza fortini* et chez *Aleuria aurantia* peuvent être généralisées aux autres espèces d'Operculés étudiées jusqu'à présent par les auteurs car l'ontogénèse de la paroi des ascospores s'y fait apparemment selon des processus analogues. Toutefois ces conclusions ne peuvent être définitives car le développement de la paroi n'est pas connu chez toutes les espèces qui ont été étudiées. D'autre part le matériel a été souvent fixé au permanganate de potassium et non au glutaraldéhyde post-osmié, ce qui peut éventuellement fausser les comparaisons.

Néanmoins, on retrouve dans la paroi des ascospores des Operculés qui ont été examinés, une «paroi propre» constituée de deux couches A et B. La couche A est généralement épaisse et assez transparente aux électrons. Elle a été qualifiée d'«épispore» (MALENÇON 1929, puis LE GAL 1947, chez diverses espèces; SCHRANTZ 1970, chez *Galactinia plebeia*), ou d'«endospore» (DELAY 1966, chez *Ascobolus immersus*; REEVES 1967, chez *Pyronema domesticum*; WELLS 1972, chez *Ascobolus stercorarius*) ou même de l'ensemble «épispore + endospore» (SCHRANTZ 1970, chez *Pustularia catinus*) ou, enfin, de paroi primaire (CARROLL 1969, chez *Saccobolus kerverni*; OSO 1969, chez *Ascobolus viridulus*).

La couche B correspond, semble-t-il, à l'ensemble de l'«assise sous-périsporique» et de la «coque interpérisporique» de LE GAL (1947) séparées sans doute par la sous-couche β mentionnée plus haut. Elle a été observée par DELAY (1966) chez *Ascobolus immersus*, par SCHRANTZ (1970) chez *Galactinia plebeia* et *Pustularia catinus*, ainsi que par WELLS (1972) chez *Ascobolus stercorarius*. Elle est qualifiée d'«épispore» (DELAY 1966, WELLS 1972) ou d'«exospore» (SCHRANTZ 1970). Elle ne paraît pas distincte après fixation au permanganate de potassium (cf. REEVES 1966 et CARROLL 1969).

On qualifie généralement de «périspore» l'ensemble des couches C et D depuis le travail de MALENÇON (1929). Du point de vue ultrastructural la couche C n'est peut-être pas toujours présente. On peut cependant l'observer

Source : MNHN, Paris

chez *Ascobolus stercorarius* (WELLS 1972), sous la forme d'une couche granuleuse à trois strates, la strate médiane étant seule transparente aux électrons. Peut-être existe-t-elle aussi chez *Ascobolus immersus*, sous la couche pigmentée (DELAY 1966), et chez *Ascobolus viridulus* (OSO 1969) où elle est à peine décelable. Une couche C est peut-être aussi présente chez *Saccobolus kerverni* (CARROLL 1966), *Pustularia catinus* et *Galactinia plebeia* (SCHRANTZ 1970).

Il résulte des considérations précédentes que la terminologie utilisée dans l'étude des parois des ascospores des Operculés est encore très hétérogène. Dans un souci de clarification, et de façon provisoire, compte tenu du petit nombre d'espèces étudiées jusqu'à présent, on peut, semble-t-il, réserver le nom d'«*épispore*» (sensu MALENÇON 1929) à l'ensemble de la «paroi propre de la spore» (ensemble des couches A et B). La couche A serait alors la couche externe de l'épispore et la couche B, sa couche interne. Toutefois, si l'on veut maintenir le terme d'«exospore» (SCHRANTZ 1970), il faudrait alors réserver le terme d'«épispore» à la couche A.

L'«*endospore*», qui n'a pas été observée chez les espèces étudiées ici, ni apparemment chez d'autres Operculés, paraît être une couche qui se développe tardivement entre le plasmalemme sporal et la paroi propre de la spore en liaison peut-être avec les conditions du milieu où se trouve libérée la spore (cf. STIERS 1974 chez le Pyrénomycète *Poronia punctata*).

On peut qualifier de «*périspore*» (sensu MALENÇON 1929), l'ensemble des couches C et D observées ici, en qualifiant la couche C de «partie profonde» de la périspore et la couche D de «partie externe» de la périspore.

Quant à la couche E, rarement mentionnée (SCHRANTZ 1970), on pourrait l'appeler «ectospore» comme cet auteur. Sa nature et son origine restent cependant à préciser avant de pouvoir la dénommer valablement.

Il n'est pas question pour l'instant d'étendre ces considérations aux Ascomycètes en général; on peut cependant faire remarquer qu'une disposition en réseau, bien distincte sur des coupes tangentielles, et rappelant celle que nous avons observée chez le *Peziza fortini* (Fig. 2, C), a été signalée dans l'ornementation de la paroi des ascospores de l'*Hypoxylon glycyrrhiza* (ROGERS 1975). Cette disposition, apparemment de nature périsporiale, pourrait correspondre à la présence d'une couche C dans la paroi des ascospores de ce Pyrénomycète.

3. L'ornementation des ascospores ne résulte pas d'une condensation quelque peu passive de la périspore contre la paroi propre de l'ascospore. La présence de mitochondries et de plages de glycogène dans l'épiplasme qui fait face aux sommets des protubérances ornementales, montre, au contraire, que des organites cytoplasmiques actifs dans le métabolisme, interviennent dans l'édification de cette ornementation.

La migration centripète de granules riches en lipides à l'intérieur de la périspore, puis leur coalescence au voisinage de la paroi propre de l'ascospore, au moment où une fine stratification apparaît dans la couche B, indiquent que

Source : MNHN, Paris

ces processus d'édification sont complexes et qu'ils impliquent des corrélations entre les diverses couches de la paroi lors du développement de celle-ci.

L'intervention de l'épiplasme, au moins par le jeu de ses mitochondries, doit donc être envisagée dans le développement de l'ornementation; mais on ne peut préciser son importance par rapport au rôle du sporoplasme. Peut-être celui-ci intervient-il dans le déterminisme de l'emplacement des futures crêtes ornementales et dans les modalités de leur coalescence. Ces dernières, en effet, ne sont pas quelconques. Chez *Peziza fortini*, en particulier, on discerne une disposition hélicoïdale des bandelettes, recoupées par un sillon longitudinal.

4. On sait qu'il existe plusieurs types d'ornementation des ascospores chez les Operculés (cf. ECKBLAD 1968). De nouvelles recherches portant sur d'autres espèces de Pezizales sont donc indispensables avant de tenter de dégager quelques remarques d'ordre systématique. De même, il est prématuré, compte tenu des données fragmentaires dont on dispose sur l'ornementation des ascospores, de vouloir comparer celle-ci avec l'ornementation des basidiospores. Toute comparaison avec l'ornementation des grains de pollen reste également, pour l'instant, du domaine des spéculations; on peut toutefois s'interroger sur la signification de la présence de sporopollenine dans les parois sporales de *Neurospora* (GOODAY et al. 1974).

Des recherches sur l'ornementation ascosporale d'autres espèces d'Operculés convenablement choisies, mettant en oeuvre à la fois la microscopie électronique à balayage et par transmission (en utilisant pour celle-ci divers tests cytochimiques), peuvent donc apporter des données intéressantes d'ordre systématique, cytologique et biologique. Il est de notre intention de les amorcer et d'envisager aussi les rapports entre l'ornementation des ascospores et la présence éventuelle d'un pore germinatif ainsi que le comportement de l'ornementation sporale au cours de la germination.

REMERCIEMENTS

Nous remercions vivement M. le Professeur CHADEFAUD pour ses suggestions lors de la réalisation de ce travail. Nous avons largement bénéficié de l'assistance technique de Melle G. PAYEN et de Mme A. M. SLEZEC qu'il nous est agréable de remercier ici, ainsi que Mme T. CASSES pour les dessins, MM. E. VAAST et M. LETALNET pour les tirages photographiques et Melle N. GUERRAUD pour la frappe du manuscrit. M. H. ROMAGNESI a bien voulu nous traduire en latin la diagnose de la nouvelle espèce. Qu'il trouve ici notre reconnaissance.

Source : MNHN, Paris

BIBLIOGRAPHIE

BELLEMERE A., 1975 – Étude ultrastructurale des asques : la paroi, l'appareil apical, la paroi des ascospores chez des Discomycètes Inoperculés et des Hystériales. *Physiol. Vég.* 13, 3 : 273-286.

CARROLL G. C., 1966 – A study of the fine structure of ascosporogenesis in *Saccobolus kerverni* and *Ascodesmis sphaerospora*. Ph. D. Thesis. University of Texas, Austin.

CARROLL G. C., 1969 – A study of the fine structure of ascosporogenesis in *Saccobolus kerverni*. *Arch. Mikrobiol.* 66 : 321-339.

CHADEFAUD M., 1938 – Le protoplasme, les vacuoles et l'ornementation des spores dans les asques de deux Pezizes. *Rev. Mycol.* III (N. S.) : 115-128.

CHADEFAUD M., 1940 – Le réseau ornemental des spores et l'appareil apical des asques chez *Peziza aurantia* Pers. *C. R. Ac. Sc.* 211 : 659-660.

CHADEFAUD M., 1942 – Études d'asques, II : Structure et anatomie comparée de l'appareil apical des asques chez divers Discomycètes et Pyrénomycètes. *Rev. de Mycol.* VII (N. S.) : 58-88.

CHADEFAUD M., 1973 – Les asques et la Systématique des Ascomycètes. *Bull. Soc. Myc. Fr.* 89, 2 : 127-170.

DELAY C., 1966 – Étude de l'infrastructure de l'asque de l'*Ascobolus immersus* Pers. pendant la maturation des spores. *Ann. Sc. Nat., Bot. et Biol. Vég.* 7 : 361-378.

DENNIS R. W. G., 1968 – British Ascomycetes. Cramer ed. Lehre, 455 p., XL pl., 31 fig.

ECKBLAD F. E., 1968 – The Genera of the Operculate Discomycetes. A re-evaluation of their taxonomy, phylogeny and nomenclature. *Nytt. Magasin for Botanikk* 15, 1-2 : 1-191.

ELLIOTT M. E. & KAUFERT M., 1974 – *Peziza badia* et *Peziza badioconfusa*. *Can. J. Bot.* 52, 3 : 467-472.

GOODAY G. W., GREEN D., FAWCETT P., SHAW G., 1974 – Sporopollenin formation in the ascospore wall of *Neurospora crassa*. *Arch. Microbiol.* 101 : 145-151.

KORF R. P., 1973 – Discomycetes and Tuberales. *In* AINSWORTH G. C., SPARROW F. K., SUSSMANN A. S. The Fungi IVa. Academic Press, New York : 249-319.

LE GAL M., 1947 – Recherches sur les ornementations sporales des Discomycètes Operculés. *Ann. Sc. Nat., Bot.* XI, 8 : 73-297.

MALENÇON G., 1929 – Observations sur les ornements des spores chez les Champignons. *Arch. de Bot.* III, 7 : 121-129.

MAC KNIGHT K. H., 1973 – Two misunderstood species of *Gyromitra* (false morel) in North America. *Mich. Bot.* 13 : 147-162.

MAC KNIGHT K. H. & BATRA L. R., 1974 – Scanning electron microscopy in taxonomy of Gyromitroid fungi. *The Michigan Bot.* 13 : 51-64.

MOBERG R., 1970 – *Neogyromitra caroliniana* et *N. gigas* in Fennoscandia. *Friesia* 9 : 341-343.

OSO B. A., 1969 – Electron microscopy of ascus development in *Ascobolus*. *Ann. of Bot.* 33 : 205-209.

PFISTER D. H., 1975 – Scanning electron micrographs of ascospores of *Pachyella* (Discomycetes). *Mycotaxon* III, 1 : 105-108.

REEVES F. Jr, 1966 – An ultrastructural study of ascosporogenesis in *Pyronema domesticum*. Ph. D. Thesis University of Illinois, Urbana.

Source : MNHN, Paris

REEVES F. Jr., 1967 – The fine structure of ascospore formation in *Pyronema domesticum*. *Mycologia* 59 : 1018-1033.

RIFAI M. A., 1968 – The Australian Pezizales in the Herbarium of the Royal Botanical Gardens Kew. N. V. Noord-Hollandsche Uitgevers Maatschappij, Amsterdam.

ROGERS J. D., 1975 –The ascospore of *Hypoxylon glycyrrhiza*. *Mycologia* 67, 3 : 657-662.

SCHRANTZ J. P., 1970 – Étude cytologique en microscopie optique et électronique de quelques Ascomycètes. II. La paroi. *Rev. Cytol. et Biol. Vég.* 33 : 111-168.

STIERS D. L., 1974 – Fine structure of ascospore formation in *Poronia punctata*. *Can. J. Bot.* 52, 5 : 999-1033.

THIERY J. P., 1970 – Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines en microscopie électronique. *J. Microsc.* 6 : 987-1018.

WELLS K., 1972 – Light and electron microscopic studies of *Ascobolus stercorarius*. II, Ascus and ascospore ontogeny. University of California Press, Berkeley.

Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

ACTION D'UNE PROTÉASE EXTRAITE DE STREPTOMYCES FRADIAE SUR LA MICROFLORE DE DIFFÉRENTS SUBSTRATS NATURELS

par M. J. CHARPENTIÉ *

RÉSUMÉ. — La fradiase, enzyme protéolytique incorporée aux aliments pour animaux, est testée au laboratoire en vue de déterminer son action sur le développement de la microflore spontanée de ces aliments.

On effectue les essais qualitatifs préliminaires sur des microorganismes du sol, puis sur trois sortes d'aliments complexes pour animaux; l'analyse quantitative est appliquée à la microflore des grains de maïs en condition de stockage. On constate que la fradiase favorise de façon sensible le développement des microorganismes contaminants, sans que cette altération dépasse les limites acceptables pour les qualités hygiéniques du produit.

INTRODUCTION

Deux souches de *Streptomyces fradiae*, inventoriées au Muséum sous les n° 1998 et 2019, ont été exploitées industriellement pour leurs propriétés protéolytiques. Le complexe enzymatique extrait après fermentation de ces souches, et désigné sous le nom de «fradiase», a fait l'objet d'un brevet d'invention (HOOREMAN N° 7004271). Des échantillons de cette enzyme nous ont été communiqués en vue de tester l'action de la fradiase sur divers microorganismes, notamment les Hyphomycètes du sol et sur la microflore de certains aliments pour animaux. Après de nombreux essais qualitatifs prouvant l'activité de la fradiase, nous avons réalisé une étude quantitative sur la microflore des grains de maïs.

A. ÉTUDE QUALITATIVE DE L'ACTION DE LA FRADIASE

1. ACTION DE LA FRADIASE SUR LA MICROFLORE DE 3 SOLS :

Nous disposons de 3 échantillons de sols agraires de la Creuse, dont l'analyse qualitative de la flore a été faite sur des milieux de culture divers, additionnés

* Laboratoire de Cryptogamie du M.N.H.N., 12 rue de Buffon, 75005 Paris.

Source : MNHN, Paris

ou non de fradiase. Les milieux ont été choisis et diversifiés de façon à révéler le plus grand nombre possible d'espèces (maltea 2%, maltea-chloramphénicol, P.D.A., Bennett.).

Technique

L'enzyme en solution dans l'eau stérile, est incorporée au milieu gélosé après stérilisation et refroidissement de celui-ci à 40°. Trois concentrations de fradiase sont utilisées : 0,24 g/litre, 0,12 g/litre et 0,06 g/litre de l'enzyme titrant 9000 UA/mg.* Le milieu ainsi préparé est coulé dans des boîtes de Pétri contenant chacune une pincée de terre réduite en poudre.

L'échantillon de terre n° 1 s'est révélé le plus intéressant quant à la variété de la microflore; les résultats observés sur le maltea 2% sont indiqués dans le tableau 1.

Tableau 1

Milieu	bactéries	Moisissures
Maltea 2% (Témoin)	+	*Rhizopus nigricans* *Penicillium vermiculatum* *Streptomyces griseus* *Aspergillus fumigatus* *Aspergillus* sp. *Trichoderma hamatum*
M 2% + 0,06 g f.	+ +	*Zygorhynchus moelleri* *Trichoderma hamatum*
M 2% + 0,12 g f.	+ + +	*Zygorhynchus moelleri* *Trichoderma hamatum* *Gliocladium roseum*
M 2% + 0,24 g f.	+ + +	*Zygorhynchus moelleri* *Trichoderma hamatum* mycélium stérile

g f. : grammes de fradiase par litre de milieu.

Résultats :

Deux remarques s'imposent : en ce qui concerne les bactéries, leur développement est en rapport direct avec la présence de fradiase, la plus forte concentration de fradiase provoquant le meilleur développement. La flore des moisissures, par contre, est moins sensible aux différentes concentrations de l'enzyme.

* 1 unité Anson est la quantité d'enzyme qui, incubée pendant 10mn à 25 ± 0,2°C avec de l'hémoglobine dénaturée, libère de ce substrat l'équivalent de 1 μg de tyrosine.

Source : MNHN, Paris

Notons cependant que la flore est beaucoup moins variée en présence de fradiase; 2 souches dominent très nettement : *Zygorhynchus moelleri* et *Trichoderma hamatum*.

2. ACTION DE LA FRADIASE SUR LA FLORE SPONTANÉE D'ALIMENTS POUR ANIMAUX

Les essais ont porté sur trois sortes de produits utilisés dans l'alimentation des animaux d'élevage : ensilage, avoine et luzerne. Chacun de ces produits a été testé avec 3 concentrations de fradiase : 0,12 g/litre, 0,06 g/litre, 0,012 g/litre, titrant 9000 UA/mg; et parallèlement, sans addition de fradiase.

Technique :

Après stérilisation d'un milieu gélosé contenant 18 g d'agar pour 1 litre d'eau et refroidissement à 40°, on incorpore à la gélose le produit broyé à raison de 20 g/litre, puis la fradiase. Le milieu ainsi préparé est coulé en boîtes de Pétri mises à l'étuve à 24°.

Résultats : (consulter les tableaux 2, 3 et 4)

Dans le milieu avec ensilage, l'action de la fradiase ne se fait sentir nettement qu'à la plus forte concentration de l'enzyme, où nous observons une moins grande variété de la flore fongique. 2 espèces dominent : un Actinomycète et *Doratomyces microsporus*. (Tab. 2)

Tableau 2

Milieu	Moisissures	
	croissance	genres
ensilage	+	*Streptomyces, Fusarium* sp.
	+	*Doratomyces microsporus*
	+	*Ascobolus* sp., *Trichoderma*
ensilage + 0,012 g f.	+	*Streptomyces, Fusarium* sp.
	+ +	*Ascobolus*
	+ + +	*Doratomyces microsporus*
ens. + 0,06 g f.	+	*Streptomyces, Fusarium, Trichoderma*
	+ + +	*Doratomyces microsporus*
ens. + 0,12 g f.	+	*Ascobolus*
	+ + +	*Doratomyces, Streptomyces*

g f. : grammes de fradiase par litre de milieu.

Source : MNHN, Paris

En ce qui concerne le milieu avec avoine, on remarque qu'en l'absence de fradiase, il y a prédominance très nette du *Trichoderma*, (espèce cellulolytique dont la présence est sans doute liée au tégument des grains). Avec une concentration de 0,012 g de fradiase par litre de milieu, il y a prédominance des mucorales (*Mucor* et *Rhizopus*). Pour une concentration de 0,06 g/l de fr., Mucorales et *Trichoderma* s'équilibrent à peu près, et à la plus forte concentration de l'enzyme, il y a nette récession des Mucorales, disparition du *Trichoderma* mais, par contre, meilleure croissance des Bactéries et présence de quelques colonies d'*Aspergillus* et *Penicillium*. (Tab. 3)

Tab. 3

Milieu	Bactéries	Moisissures	
	croissance	espèces	croissance
Avoine	+	*Mucorales, Aspergillus fumigatus* *Trichoderma harzianum*	+ + + + +
av. + 0, 012 g f.	+	*Sordaria fimicola* *Rhizopus arrhizus* *Mucor racemosus, Trichoderma har.*	+ + + + + +
av. + 0,06 g f.	+ +	*Asp. niger, Asp. fumigatus* *Rhizopus arrhizus* *Trichoderma harzianum* *Mucor racemosus*	+ + + + + + + + + +
av. + 0,12 g f.	+ + +	*Penicillium* sp. *Rhizopus, Mucor, Asp. flavus* *Aspergillus fumigatus*	+ + + + + +

g f. : grammes de fradiase par litre de milieu.

Dans le cas du milieu à la luzerne, il faut noter que dans l'ensemble la microflore est riche et variée, mais ne présente pas de modifications notables suivant les concentrations de fradiase. Cependant, dans le milieu additionné de 0,06 g de fr./litre, la microflore se développe moins bien. (Tab. 4)

Source : MNHN, Paris

Tableau 4

Milieu	Bactéries	Moisissures	
	croissance	Genres	croissance
luzerne	+	*Streptomyces* sp. *Trichoderma* *Mucor, Rhizopus* *Penicillium*	+ + + + + + + + + +
Luz. + 0,012 g f.	+	*Mucor, Rhizopus* *Streptomyces, Scopulariopsis* *Penicillium*	+ + + + + + + + + + +
Luz. + 0,06 g f.	+ + +	*Scopulariopsis, Penicillium* *Streptomyces* *Mucor, Rhizopus*	+ + + + +
Luz. + 0,12 g f.	+ + + +	*Penicillium* *Scopulariopsis* *Mucor, Rhizopus*	+ + + + + + + + + +

g f. : grammes de fradiase par litre de milieu.

B. ÉTUDE QUANTITATIVE DE L'ACTION DE LA FRADIASE

Cet essai a pour but d'apprécier quantitativement l'action de la fradiase sur la microflore des grains de maïs humides, au moment du traitement et en cours du stockage des grains traités. Il a été réalisé au Service de Microbiologie de la Station de Biochimie et de Physicochimie des céréales (INRA) sous la direction de Mme J. POISSON, et selon la technique mise au point dans ce laboratoire pour l'étude des contaminants du maïs dans les conditions de stockage.

1. PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

Du maïs dont la teneur en eau est de 16%, est réhumidifié jusqu'à une teneur en eau de 27% par addition d'une solution de fradiase à trois concentrations différentes : 30mg par kg de grains, 300mg et 3000mg (le lot témoin est réhumidifié sans fradiase. Après homogénéisation dans un mélangeur cubique pendant 30 minutes, les grains sont alors répartis dans des sachets stériles en maille de nylon contenant la même quantité approximative de maïs (200g). Ces

Source : MNHN, Paris

Prélèvements	Durée en jours	Teneurs en eau	Bactéries mésophiles x 10^3	Entéro-bactéries x 10^3	Levures x 10^3	Pseudo-Levures x 10^3	Mois. Totales x 10^3	Mucorales x 10^3
Témoin	Tps 0	26,40	15.000	6.230	20.000	ND	1,53	1,53
30 mg	"	26,80	4.020	4.020	12.600	ND	1,65	1,65
300 mg	"	26,40	9.800	9.800	15.450	ND	1,62	1,62
3000 mg	"	26,80	11.880	7.450	10.350	ND	1,44	1,44
Témoin	Tps 3j	25	15.900	10.300	36.000	150	1050	
30 mg	"	25,70	9.750	8.670	27.000	300	1290	
300 mg	"	25,65	20.550	19.900	37.500	5.400	2550	1800
3000 mg	"	25,35	49.800	33.450	114.000	12.000	2070	
Témoin	Tps 6j	NC	9.300	6.000	44.100	ND	4350	
30 mg	"	"	7.830	7.800	43.500	ND	3660	
300 mg	"	"	15.300	14.400	31.800	ND	3690	
3000 mg	"	"	18.300	12.900	45.900	ND	5280	
Témoin	Tps 13j	"	10.260	5.820	16.200		19800	
30 mg	"	"	7.800	3.660	15.900		16800	
300 mg	"	"	20.400	7.050	9.600		23100	
3000 mg	"	"	13.800	5.880	14.100		14100	

Source : MNHN, Paris

sachets sont placés dans des enceintes fermées de façon non étanche, d'une capacité de 10 litres, dont l'atmosphère est maintenue à une humidité relative constante de 93%, mise en équilibre hydrique avec une solution saturée de NO_3K (ROCKLAN 1960). La teneur en eau correspondante des grains de maïs est voisine de 26% de la substance humide.

2. MÉTHODES D'ANALYSE :

a) détermination de la teneur en eau des grains

Le dosage s'effectue sur des grains de maïs tels quels, par un séchage à l'étuve à 130°C de 10 g de grains, pendant 38 à 40 heures (GUILBOT 1969). Les résultats sont exprimés en pourcentage de la substance humide.

b) détermination de la teneur en microorganismes

Les microorganismes des grains sont dispersés dans un milieu de suspension (POISSON J. et CAHAGNIER B. 1972). Dans la suspension mère ainsi obtenue, les microorganismes sont dénombrés par la méthode classique des dilutions décimales, suivies d'ensemencement sur milieu de culture en boîte de Pétri.

Les milieux de culture utilisés sont : la gélose pour numération (peptone pancréatique de caséine, 2,5 g, extrait de levure déshydraté 4 g, agar 12 g, eau 1 litre, pH : 7,2) utilisée pour le dénombrement des bactéries; le milieu à l'extrait de malt (malt DIFCO 20 g, eau 1 litre, pH : 7) et un milieu pour germes osmophiles (malt 20 g, chlorure de sodium 70 g, saccharose 50 g, agar 14 g; eau distillée 1 litre, pH : 7) sont utilisés pour le dénombrement des moisissures. Un milieu gélosé-glucosé, bilié, au cristal violet et rouge neutre, sélectif par les sels biliaires, est utilisé pour les entérobactéries.

Les températures d'incubation sont de 30° pour les bactéries et de 25° pour les moisissures. Les dénombrements sont effectués après 24 heures pour les entérobactéries, après 72 heures pour les bactéries aérobies mésophiles, levures et Mucorales (moisissures ceonocytiques à croissance rapide) et après 1 semaine environ pour les autres moisissures.

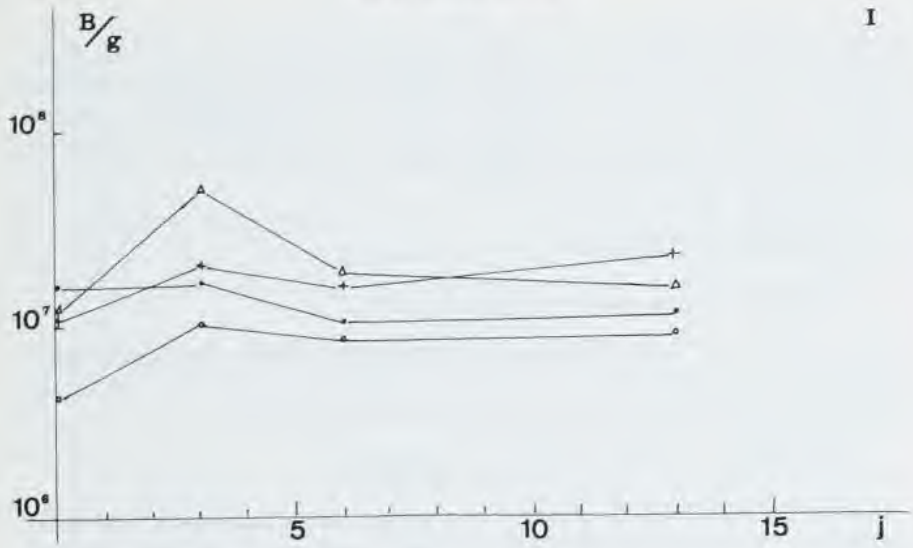
3. RÉSULTATS

a) la teneur en eau des échantillons est restée constante, 26%, pendant toute la durée des essais, donc, s'il y a des différences dans l'évolution des divers échantillons, celles-ci ne sauraient être dues à des différences entre les teneurs en eau des lots.

b) évolution des microorganismes (consulter le tableau 5 et les figures 1, 2 et 3).

Bactéries : leur nombre évolue peu au cours des essais, sauf dans le lot traité avec 3000 mg de fradiase où il augmente légèrement (de façon peu significative) au début du stockage.

Source : MNHN, Paris



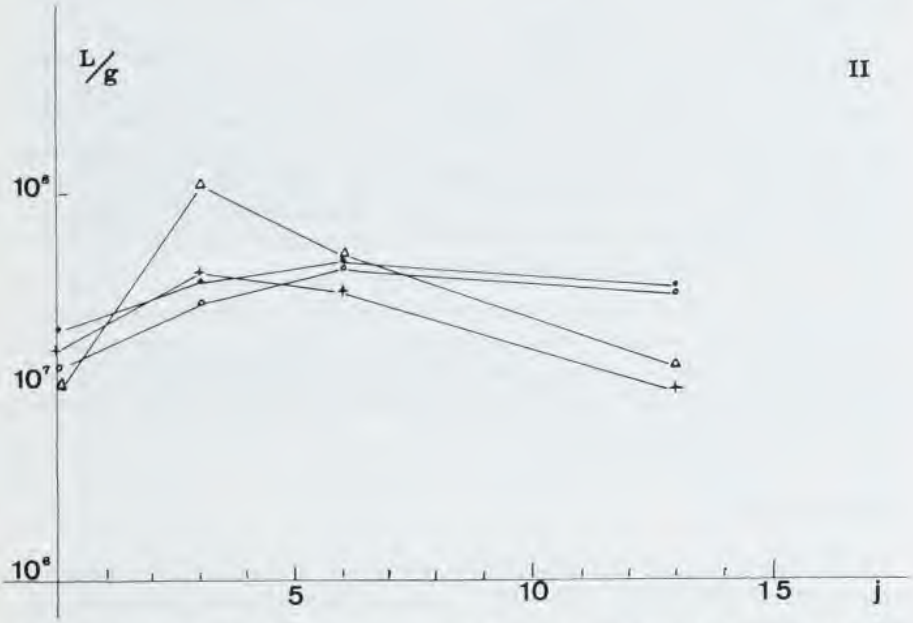


Fig. 1. — Évolution de la flore bactérienne de grains de maïs humide (teneur en eau 26% sh) au cours d'un stockage en atmosphère confinée. Les grains sont traités avec 3 concentrations de fradiase. — Abscisses : durée du stockage en jours. Ordonnées : nombre de bactéries mésophiles par g de grain.

Fig. 2. — Évolution de la flore de levures de grains de maïs humide traités avec 3 concentrations de fradiase. — Abscisses : durée de stockage. Ordonnées : nombre de levures par g de grain.

(● Témoin; ○ 30 mg de fradiase par Kg de grains; + 300 mg de fradiase par kg de grains; △ 3000 mg de fradiase par Kg de grains).

Source : MNHN, Paris

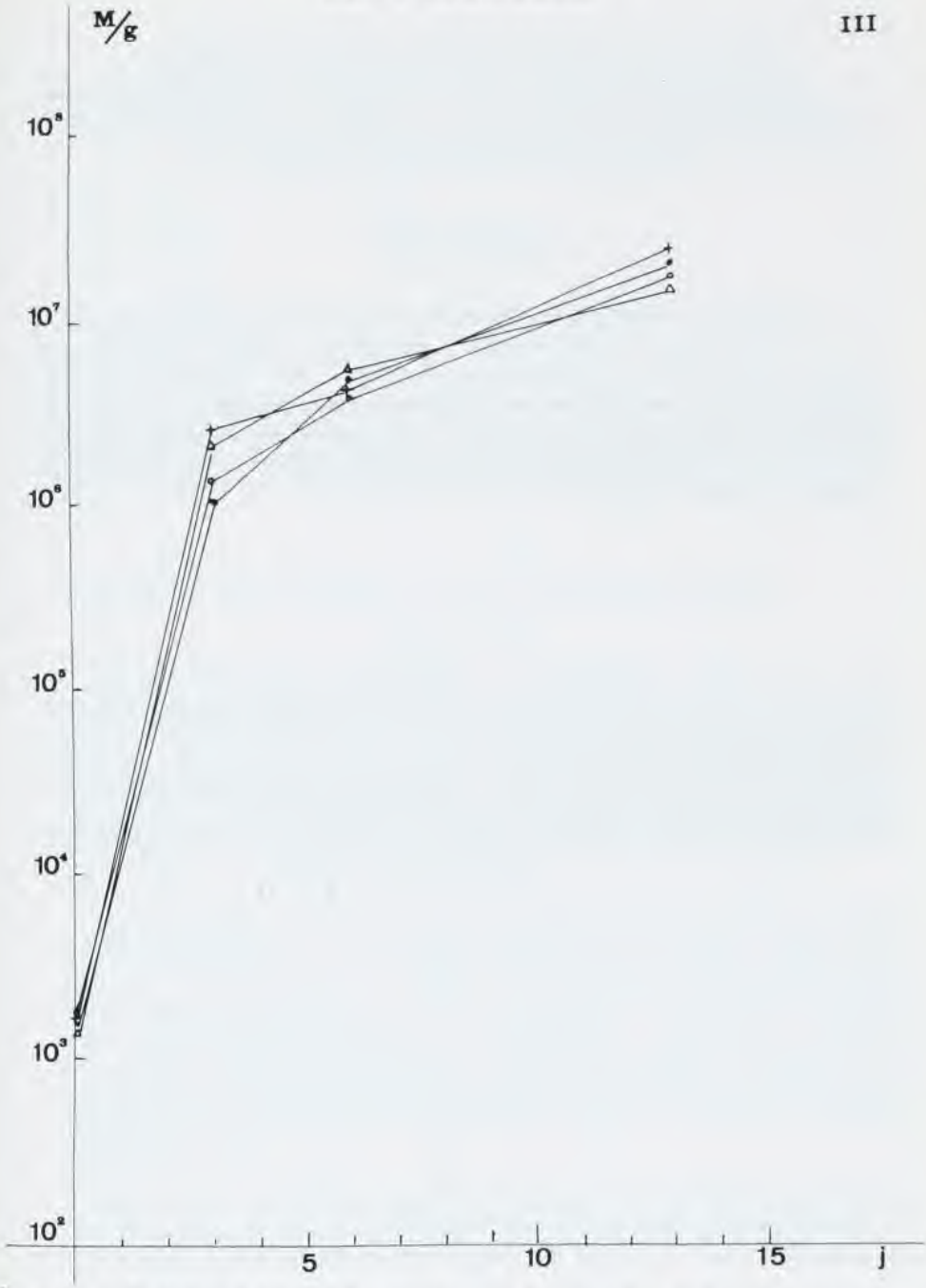


Fig. 3. — Évolution de la mycoflore (moisissures) de grains de maïs humide traités avec 3 concentrations de fradiase.

(● témoin; ○ 30 mg de fradiase par Kg de grain; + 300 mg de fradiase par kg de grain; △ 3000 mg de fradiase par Kg de grain).

Source : MNHN, Paris

Levures : leur évolution est identique à celle des bactéries.

Moisissures : leur nombre augmente rapidement dans tous les lots traités et non traités, dès les premiers jours du stockage. Les différences entre les concentrations de fradiase n'entraînent pas de variation quantitative.

CONCLUSION

Il apparaît donc certain que la fradiase, enzyme protéolytique, a une action sur le développement de la microflore de substrats divers. Cependant cette action n'est pas assez importante pour modifier profondément cette flore et déterminer ainsi des changements significatifs de la qualité du substrat. Étant donné que cette enzyme est destinée à être introduite dans l'alimentation animale, il convient de noter que la présence de fradiase ne modifie pas essentiellement la qualité hygiénique du produit utilisé.

BIBLIOGRAPHIE

GUILBOT A., 1969 – Dosage de l'eau dans le maïs humide. Méthode proposée à l'I. C. C. pour normalisation. Réunion de Paris, mars.

POISSON J. & CAHAGNIER B., 1972 – Aspect microbiologique de la conservation du maïs grain humide par l'acide propionique. *Ann. Technol. Agric.* 21, 2 : 99-122.

ROCKLAN L. B., 1960 – Satured salt solution for static control of relative humidity between 5° and 40° C. *Ann. Chem.* U.S.A. 32, 10 : 1375-1376.

Source : MNHN, Paris

OBSERVATIONS ON THE BOLBITIACEAE XV.

The taxonomic position of those species of CONOCYBE possessing ornamented basidiospores.

by R. WATLING *

RÉSUMÉ. — Description de deux taxa nouveaux : *Conocybe* sous-genre *Conocybe*, section *Nodulososporae* nov. sect. (type : *Pseudoconocybe nodulosospora* Hongo) et *C.* sous-genre *Pilifera* section *Verrucisporae* nov. sect. (type *C. subverrucispora* Vesélsky & Watling). La nouvelle combinaison *C. nodulosospora* (Hongo) Watling est proposée.

A SPECIES OF *CONOCYBE* WITH NODULOSE SPORES

Members of the family Bolbitiaceae are characterised by their smooth, brown, basically ellipsoid basidiospores usually equipped with an apical germ-pore which is often so broad as to give a truncated aspect to the spore (Fig. 1, D). It is on these characters that bolbitiaceous basidiospores can be easily recognised in a heterogeneous mass of propagules. Many species, particularly in subgenus *Conocybe*, have the spore-wall distinctly thickened whilst others have slight modifications to the ellipsoid shape eg. *Conocybe antipus* (Lasch.) Kühn. and *C. hexagonosporus* Métrod (Fig. 1, H et I).

HONGO (1967) described from Japan *Pseudoconocybe nodulosospora* which because of the presence of lecythiform cheilocystidia and rust-coloured spore-print was related by him to *Conocybe*. However, the presence of nodulose basidiospores prompted him to erect a new genus to accomodate his species (Fig. 1, G). Through the kindness of Prof. HONGO I have had the opportunity to examine the type material of *P. nodulosospora* and find that the spores are basically ellipsoid, superimposed onto which is a nodulose outline. In general appearance the basidiospores resemble those found in members of *Inocybe* subgenus *Clypeus*.

The finding of nodulose-shaped basidiospores in the Bolbitiaceae, although very interesting, is not unexpected; in fact it is possibly predictable after an examination of the other families of agarics. It appears to be a further example

* Royal Botanic Garden, Edinburgh EH 3 5 LR.

Source : MNHN, Paris

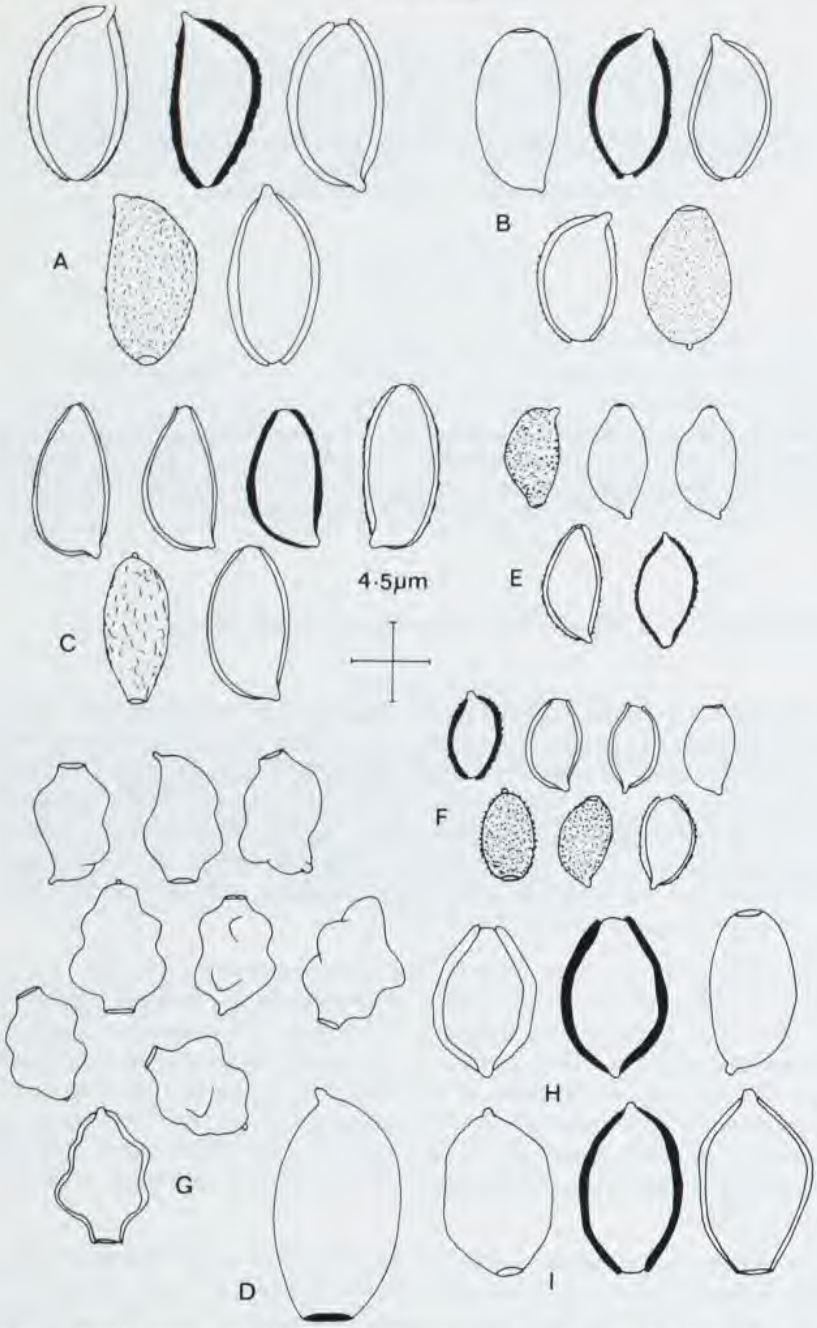


Fig. 1. — Basidiospores. A : *Conocybe subverrucispora*, holotype. B : *Bolbitius* sp. (undescribed) Smith 21740. C : *C. farinacea*, holotype. D : *Conocybe* aff. *subnuda* M. Large & Smith 928 (24.6.1947). E : *C. laricina* Watling 359. F : *Conocybe* (sg. *Ochromarasmius*) sp. (undescribed) Smith 44717. G : *C. nodulosospora*, holotype. H : *C. antipus* Watling 1304 C. I : *Conocybe* aff. *hexagonosporus* Watling 543C. Magnifications are indicated.

Source : MNHN, Paris

of the pattern exhibited in several genera or agaric families i. e., where there is a modification to a greater or lesser degree, of one isolated although basic character whilst retaining other characters by which the group can be still recognised. Thus basidiospores with a wavy outline are to be found in quite unrelated groups, e.g. *Hygrogaster* in the Hygrophoraceae, *Tricholoma goniospermum* Bres., and several species of *Lepista* and *Rhodocybe* in the Tricholomataceae, *Verrucospora* in the Lepiotaceae etc. As mentioned above one entire subgenus of *Inocybe*, i. e. subgenus *Clypeus*, is typified by nodulose spores, although the other subgenus (i. e. subgenus *Inocybe*) contains species with optically quite smooth spores (see PEGLER & YOUNG, 1971). Basically the shape in both subgenera is ellipsoid to fusiform or reniform, however, members of the subgenus *Clypeus* section *Calosporae* differ markedly in being ovoid or subglobose with spinose protuberances, reflecting here also that a few species in an otherwise homogeneous assemblage have one major character different. The family Rhodophyllaceae as restricted by KUHNER and ROMAGNESI (1953), DENNIS, ORTON and HORA (1960) etc., is characterised by irregular basidiospores but even in this group some members e. g. *Leptonia babingtonii* (Blox.) P. D. Orton and others species referable to the genus *Pouzaromyces* Pilat, have more of a wavy outline than the more characteristic angular outline.

An anatomical examination of *Pseudoconocybe nodulosospora* shows there are no significant differences between it and members of the genus *Conocybe* subgenus *Conocybe*. Therefore I propose to reduce the emphasis placed on the shape of the basidiospore and incorporate *Pseudoconocybe* into the existing frame-work of the genus *Conocybe* as outlined earlier (WATLING, 1965). I believe the name «pseudoconocybe» detracts from the rightful position of the fungus within the Bolbitiaceae and therefore replace the name. I propose the following section :

Nodulososporae Watling nov. sect.

Pilei epicute ex elementis pyriformibus vel elongato-clavatis; cheilocystidia lecythiformia; caulocystidia cynlindrica vel clavata; basidiosporae ellipsoideae, nodulosae. Typus : Pseudoconocybe nodulosospora *Hongo*.

This section because of the nature of the cheilocystidia is related to *Conocybe pilosella (*sect. *Pilosellae), C. tenera (*sect. *Conocybe), C. lactea (*sect. *Candidea)* and *C. intrusa (*sect. *Gigantae)*. It is more closely related to the first section in that the caulocystidia are not lecythiform.

The following new combination is necessary :

Conocybe nodulosospora (Hongo) Watling comb. nov.

Basionym : *Pseudoconocybe nodulosospora* Hongo in *Journ. Japan Bot.* 42, 5, 25, 1967.

Source : MNHN, Paris

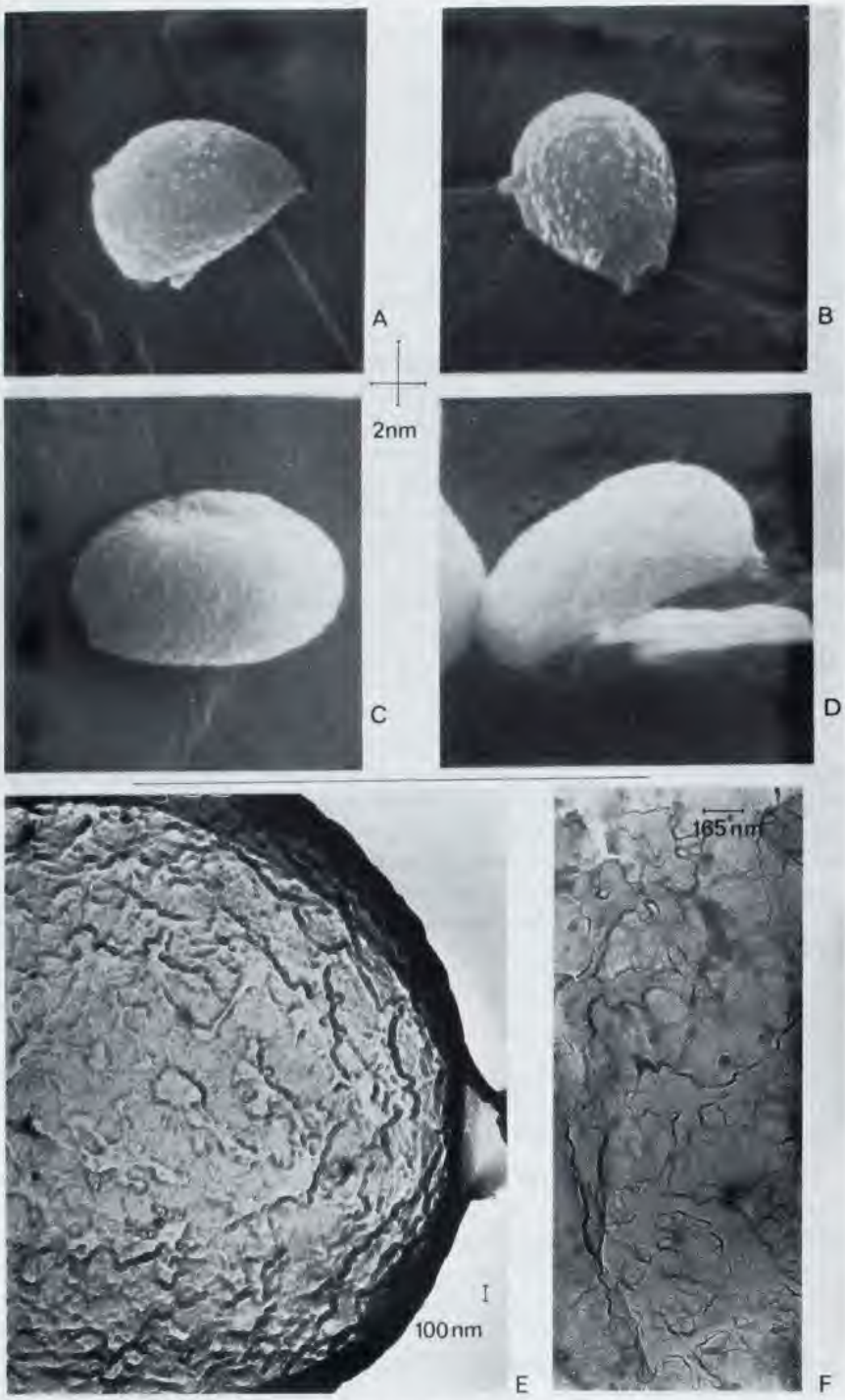


Plate 1. — Basidiospores. - *Conocybe laricina* Watling 35 G. A and B : Scanning electron micrographs; note protruding germ-pore. - *C. subverrucispora* holotype. C and D : scanning electron micrographs. E : single stage carbon replicas, electron micrograph; note apiculus and surface ornamentation. F: detail of ornamentation. Magnifications as indicated.

Source : MNHN, Paris

SPECIES OF *CONOCYBE* WITH VERRUCOSE SPORES

As mentioned above the members of the family Bolbitiaceae are characterised by their smooth basidiospores. There is one major exception, however, to this rule i. e., *Conocybe* subgenus *Ochromarasmius*, a subgenus based on the fungus *Naucoria jurensis* P. Henning. KUHNER (1935) described not only *Conocybe laricina* (Fig. 1, E and Plate 1, A and B) with minutely verrucose spores which it is believed has affinities with subgenus *Ochromarasmius* * (WATLING, 1965), but also *C. subnuda*, placed by KUHNER in *Conocybe* subgenus II *Pholiotina*. The latter fungus extends the character of minutely ornamented basidiospores into another subgenus i. e. *Pholiotina*; however, the presence of such a species within the family Bolbitiaceae should again have been foreseen. Like the nodulose spores, verrucosity in normally smooth-spored groups of species is widespread even more than the nodulose character e. g. *Boletellus betula* (Schw.) Gilbert in the Boletaceae, *Clitocybe pseudoclusilis* (Joss. & Konrad) P. D. Orton and *C. flaccida* (Sow. per Fr.) Kummer, several *Tephrocybe* spp. and *Lepista* spp. in the Tricholomataceae, *Panaeolus foenisecii* (Pers. per Fr.) Schroeter apud Cohn, *Coprinus sylvaticus* Peck, and *Lacrymaria velutina* (Pers. per Fr.) Konrad & Maubl. in the Coprinaceae and *Hypholoma udum* (Pers. per Fr.) Kühn. in the Strophariaceae.

It was not surprising therefore for a further species with ornamented spores to be located. WATLING and VESÉLSKY (1971) described *Conocybe subverrucispora* with minutely ornamented basidiospores (Fig. 1, A; Plate 1, C and D) based on material collected from several localities about Ostrava, Czechoslovakia. The affinities of this fungus are with the *C. cyanopus* - *C. aberrans* group and therefore it is referable to *Conocybe* subgenus *Piliferae*. The pileus of *C. subverrucispora* is striate, the stipe white to whitish and the basidiospores ellipsoid to pip-shaped, relatively small and only slightly thick-walled; in all these characters it resembles *C. cyanopus* (Atk.) Kühn. but what unites the two much more closely is the long, flexuous cylindric-fusiform cheilocystidia and the absence of obvious veil remains in mature fruit-bodies.

Conocybe subgenus *Piliferae* is a slightly more heterogeneous group than other subgenera within *Conocybe*, and with the subgenus *Piliferae* it is proposed to recognise a section to accomodate *C. subverrucispora*. Thus a small degree of emphasis is placed on the rather unusual irregular basidiospore ornementation (Plate 1, E and F).

Conocybe subgenus *Piliferae* section Verrucisporae Watling nov. sect.

Pilei ex elementis pyriformis vel elongato clavatis; cheilocystidia et caulocystidia cylindrica vel fusiformia; basidiosporae ellipsoideae verrucosae. Typus Conocybe subverrucispora *Vesélsky & Watling.*

Amongst the assemblage of specimens accumulated by Prof. A. H. SMITH during the period 1938-1964 and which were made available to me for exami-

* A monograph of subgenus *Ochromarasmius* is deferred until a later date.

Source : MNHN, Paris

nation through the kindness of their collector, there was a verrucose-spored member of the genus *Bolbitius* (Fig. 1, B) and one in *Conocybe* subgenus *Pholiotina* (Fig. 1, C). The former is a new species and the latter (LARGE & SMITH 928; on wet heap, near edge of road Wolf's Bay, Michigan, U.S.A. 24.VI.1947) is probably conspecific with *Conocybe subnuda*. However, *Conocybe subnuda* Kühner is a nomen nudum (see WATLING 1964). I have seen neither fresh material referable to this species nor examined KUHNER's material from France or Algeria. However, the collection made by Prof. A. H. SMITH in Michigan supports the observations that a taxon or group of taxa exist which combine the following characters : presence of veil, non-capitate cheilocystidia, narrow subhymenium and minutely rugose basidiospores. Although in *C. subnuda* the veil is only poorly developed, the cheilocystidia are typical of members of subgenus *Pholiotina* in that they are very firmly attached to the subhymenium and are difficult to isolated in their entirety. The subhymenium on which these cheilocystidia are seated is narrow and this in agreement with that found in the *C. blattaria* group. Although I do not wish at this stage to validate the name *Conocybe subnuda* I suggest that in the future one will for clarity recognise the poor veil development and rugulose surface of the basidiospores at sectional level.

Recently SINGER (1969) described *Pholiotina verrucispora* from Argentina. It differs from *Conocybe subverrucispora* in several important respects but particularly in the smaller and more strongly ornamented basidiospores. Under the present arrangement within the genus *Conocybe* this South American species would be accomodated in the newly proposed section of subgenus *Piliferae*, i. e. section *Verrucisporae*. However, before this is advised a close examination of the development of the pileopellis is required because the superficially similar genus *Descolea* may in fact be a more correct placement. *Descolea* is based on *D. antarctica* Singer and although first placed in the Cortinariaceae (SINGER 1951) it was later transferred to the Bolbitiaceae (1969); the basidiospores are, however, strongly ornamented. In many microscopic characters members of the genus *Descolea* closely approach certain groupings within the Bolbitiaceae; however, in general facies they are very different being more robust than the *Conocybe-Bolbitius* complexes. The reader is drawn to HORAK's recent work (1971) on the genus and it is only necessary here to agree with the conclusions in HORAK's excellent paper, i. e. retention of *Descolea* in the Cortinariaceae.

ACKNOWLEDGEMENTS

I am grateful for technical assistance from J. GOODALL Esq., Department of Engineering, University of Edinburgh for scanning electron microscopic studies and Mrs H. THOMSON for transmission electron microscope work.

Source : MNHN, Paris

REFERENCES

DENNIS R. W. G., ORTON P. D. & HORA F. B., 1960 – New check list of British Agarics and Boleti, *suppl. Trans. Brit. Mycol. Soc.* : 40.

HONGO T., 1967 – Notes on Japanese larger fungi. *Journ. Jap. Bot.* 42, 5 : 151-159.

HORAK E., 1971 – Studies on the genus *Descolea* Sing. *Persoonia* 6, 2 : 231-248.

KUHNER R., 1935 – *Le genre Galera, Encycl. Myc.* VII, Lechevalier, Paris.

KUHNER R. & ROMAGNESI H., 1953 – *Flore analytique des Champignons supérieurs.* Masson, Paris.

PEGLER D. N. & YOUNG T. W. K., 1971 – Basidiospore morphology in the Agaricales. *Beihefte Nova Hedwigia* 35 : 1-210.

SINGER R., 1951 – The Agaricales in Modern Taxonomy. *Lilloa* 22 (1949) : 1-831.

SINGER R., 1969 – Mycoflora Australis. *Beihefte Nova Hedwigia* 29 : 213-405.

VESÉLSKY J. & WATLING R., 1972 – Novy druh rodu *Conocybe* ornementovanymi basidiosporami. *Ceska Mykol.* 26, 4 : 201-209.

WATLING R., 1965 – Observation on the Bolbitiaceae II. Conspectus of family. *Notes Roy. Bot. Gdn. Edinb.* 26, 3 : 289-324.

WATLING R., 1964 – The taxonomic characters of the Bolbitiaceae with particular reference to the genus *Conocybe.* Ph. D. thesis, Edinburgh.

NOTE :

Since this study was commenced, material from South East Asia has become available and even a preliminary examination shows species of *Conocybe* with angular basidiospores are more widely distributed than at first thought; several taxa may be involved.

Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

TYPHULA ILICIS BERTAULT

par R. BERTAULT*

La recherche des micromycètes présente beaucoup plus d'intérêt que ne peut l'imaginer le profane. Outre l'effet de surprise qui est la règle - on ne sait jamais ce que l'on va trouver -, on est souvent dérouté lorsqu'on travaille dans un but bien déterminé.

C'est précisément ce qui nous est arrivé le 1er mai 1961, sur les pentes du Jbel Dahdon, dans le Rif central, en examinant des feuilles mortes de Houx (*Ilex aquifolium* L.) avec l'intention d'y découvrir une minuscule pézize particulière, le *Stegia ilicis* Fr. On sait que ce champignon est une cupule incrustée dans les tissus de l'hôte, initialement cachée sous un opercule qui se soulève à maturité à la manière d'un couvercle à charnière et découvre l'hyménium.

Choisissant des feuilles parsemées de ces disques noirs qui révèlent à l'oeil nu cette espèce, nous recherchions en vain les opercules en question, quand notre attention fût mise en éveil par ce qui nous parut de prime abord une anomalie, mais qui n'en était pas une : au lieu de s'ouvrir comme prévu, certains disques au contraire se bombaient, tout en se décolorant en blanchâtre à partir du centre, d'où émergeait alors une minuscule clavule élancée, hyaline puis jaune ambré, atteignant environ 1 mm de haut.

Quelques jours plus tard, dans le Moyen Atlas (Ras-el-Mà, 14.05.1961), nous retrouvions les mêmes clavules, toujours sur feuilles mortes de Houx.

Au laboratoire, un examen rapide nous montra que la clavule était recouverte d'un hyménium régulier, prolongée en stipe issu d'un sclérote, caractères menant au genre *Typhula*; mais nos recherches dans la littérature se heurtèrent à un échec, aucune espèce de ce genre n'étant signalée sur *Ilex aquifolium*.

Deux mois après (2.07.1961), au cours d'une nouvelle prospection du Rif qui nous mena jusqu'au plateau calcaire du Talassentane, plus exactement à Bab-er-Rouida (1400 m alt.), il nous fût encore possible, malgré la saison déjà très avancée, de récolter à nouveau quelques unes de ces feuilles de Houx porteuses des mêmes disques noirs, mais vierges de tout *Typhula* en raison de la sécheresse estivale. Quoi qu'il en soit, mises en culture dans des boites de Pétri, ces feuilles manifestèrent au bout de quelques jours les mêmes particularités

* 32, Place du Grand Socco, Tanger (Maroc).

Source : MNHN, Paris

évolutives que celles recueillies sur le terrain au cours de la saison humide, c'est à dire une décoloration centrifuge des disques qui devenaient blanchâtres, bordés d'un cerne noir, avec finalement l'érection d'une clavule centrale minuscule.

Le champignon obtenu par ce procédé présentait les mêmes caractéristiques que les spécimens recueillis tout épanouis dans la nature, avec toutefois des dimensions sporales quelque peu inférieures.

DESCRIPTION

Fructifications claviformes, dressées, isolées, naissant de disques superficiels épiphylles, minuscules (250-375μm diam.) noirs, puis blanchâtres, cernés d'une ligne noire. Ces disques recouvrent un sclérote inclus, arrondi, de 300-400μm diam., à chair hyaline formée d'un entrelac d'hyphes contournées-cérébriformes, à parois plus ou moins profondément gélifiées et soudées entre elles, chargées de nombreux cristaux sphériques, le tout limité par un cortex épais de 75μm, constitué de cellules globuleuses lâchement contiguës, de 20-30μm diam.

Clavules d'une hauteur totale de 700-1500μm, jaune ambré, un peu verdâtre avec l'âge, comprenant une tête fertile, claviforme, obtuse au sommet, épaisse de 150-200μm dans sa plus grande largeur, haute de 300-350μm, progressivement atténuée à la base en stipe stérile non défini, cylindracé, large de 60-100μm, concolore à la partie fertile mais en plus pâle, pubescent sous une forte loupe.

Stipe formé d'hyphes densément parallèles, larges de 2,5-4μm, à parois minces, plus ou moins gélifiées et épaissies, soudées entre elles, avec boucles éparses, non amyloïdes. Ces hyphes, chargées de cristaux comme le sclérote, se prolongent en divergeant dans la clavule proprement dite, où les cristaux se raréfient jusqu'à devenir inexistants aux environs du sommet. Surface du stipe hérissée de poils perpendiculaires à la surface, flexueux, filiformes, hyalins, atteignant 45-75 $\times$ 1μm, la base bulbeuse épaissie jusqu'à 6μm; ces poils remontent le long du stipe et se mêlent aux premières basides.

Partie fertile entièrement recouverte, même à l'apex, d'un hyménium régulier, homogène. Basides claviformes 2-4-spores : 22-25 $\times$ 5-6,5μm, plus stérigmates de 5-5,5μm de haut. Spores hyalines, amyloïdes quand elles sont colorées par l'iode, lisses, ellipsoïdes-subcylindriques : 8-9 $\times$ 3-4μm (Moyen Atlas),ou bien : 5,5-6,5 $\times$ 2,5-3,5μm (Rif, en culture).

Comme nous l'avons exprimé en débutant, notre récolte, par sa structure et la présence d'un sclérote, est bien un *Typhula* au sens de CORNER. La texture du sclérote mène au sous-genre *Phacorrhizae* Fr. que l'auteur nomme à présent « Subgen. *Typhula* ».

L'espèce la plus proche semble être le *Typhula gyrans* Fr. beaucoup trop grand et à spores de 8,5-11,5 $\times$ 4-6μm. On peut également penser à *Typhula*

Source : MNHN, Paris

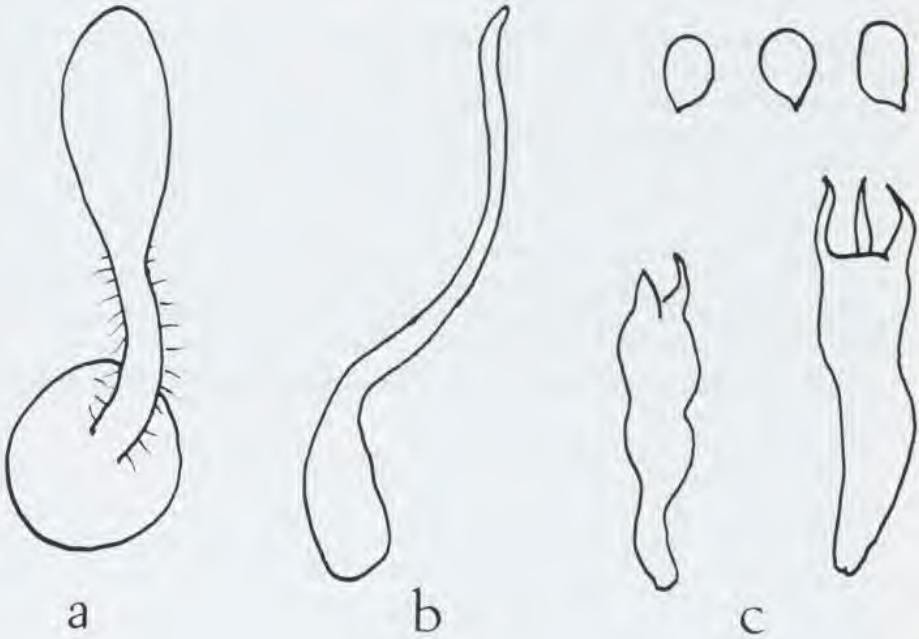


Fig. 1. — a : une clavule, X 40; b : un poil du stipe, X 800; c : deux basides et trois spores, X 800.

buxi Maire, dont les spores, de 6-7 X 3-3,5 μm sont également amyloïdes, mais dont la taille des carpophores atteint 20 fois celle des nôtres. Si l'on fait abstraction de la structure du sclérote, on peut aussi imaginer que nous avons affaire à une miniature du *T. sclerotioides* (Pers.) Fr., aux spores comparables aux nôtres, bien que leur amyloïdicité ne soit pas mentionnée.

En définitive, il ne peut s'agir que d'une espèce non décrite, qui a échappé jusqu'ici aux observateurs en raison de ses dimensions minuscules. Nous l'avons même recherchée en vain depuis 12 ans, sans jamais la retrouver; aussi croyons-nous qu'elle doit le plus souvent végéter sous forme de sclérote, et ne fructifier que dans certaines conditions précises d'humidité continue. Il est vraisemblable au reste, que son existence est assez éphémère.

C'est pourquoi nous ne pouvons qu'engager les chercheurs à récolter comme nous l'avons fait des feuilles de Houx porteuses de sclérotes, et de les mettre en culture. Peut-être leur sera-t-il alors permis de voir apparaître les clavules du *Typhula ilicis* et d'ajouter quelques précisions nouvelles à la connaissance de cette espèce peu commune.

Source : MNHN, Paris

Diagnose latine :

Typhula ilicis Bertault

Carpophoris minutissimis, claviformibus, 0,6-1,5 mm altis, ex disco nigro sclerotium inclusum occultante, innatis. Sclerotio subsphaerico, 350-500 µm diam., parietibus brunneis, 75 µm crassis, textura globulosa, cincto; carne ex hyphis dense agglutinatis, cerebriformibus, gelatinosis, constante, nec non crystallibus numerosis instructa. Clavula succinea, aetate subvirescente, fusiformi, obtusa, 300-350 × 150-200 µm undique fertili. Stipite hyalino vel subhyalino, cylindraceo, 400-100 × 60-100 µm, ex hyphis dense parallelis, 2,5-4 µm crassis, raro fibulatis, constante, pilis superficialibus, hyalinis, filiformibus, 45-75 × 1 µ, tecto. Basidiis claviformibus, 2-4-sporis : 22-25 × 5-6,5 µm, sterigmatibus 5-5,5 µm altis exclusis. Sporis hyalinis, iodi ope amyloideis, laevibus, cylindraceo-ellipsoideis : 8-9 × 3-4 µm, vel in vitro : 5,5-6,5 × 2,5-3 µm.

Hab. – In foliis dejectis Ilicis aquifolii, *in montibus Mauritaniae (Riphaeo, Atlante medio) in vere.*

Typus in Herb. G. MALENÇON, N° 5522 *Inst. Bot. Monspeliensis.*

BIBLIOGRAPHIE

CORNER E. J. H., 1950 – A monograph of *Clavaria* and allied genera. Oxford University Press. 740 p.

CORNER E. J. H., 1970 – Supplement to « A monograph of *Clavaria* and allied genera ». *Beihefte Nov. Hedw.* 33 : 127.

Source : MNHN, Paris

DÉCOMPOSITION DES SPORES DE COPRINUS ATRAMENTARIUS BULL. ex FRIES ENFOUIES DANS LE SOL. ÉTUDE ULTRASTRUCTURALE

par S. SOKOLSKI, Y. PICHE *, O. REISINGER et G. KILBERTUS **

RÉSUMÉ. — La biodégradation des basidiospores de *C. atramentarius* dans le sol est assurée essentiellement, comme celle des conidies des Hyphomycètes, par la flore bactérienne. Au début les procaryotes pénètrent par le hile et décomposent la paroi de l'intérieur vers l'extérieur. Pendant ce processus, des couches successives A, B et C se distinguent par leur résistance aux enzymes bactériennes.

Les études en microscopie électronique à transmission ou à balayage ont démontré la présence et le rôle des bactéries dans la biodégradation des Champignons Imparfaits (OLD 1969, REISINGER 1972, CLOUGH et PATRICK 1972, REISINGER et KILBERTUS 1973, WONG et OLD 1974). HARRANGER et al. (1976) ont suivi les premiers stades de la décomposition de *Pyrenochaeta lycopersici*. Ils ont constaté que certaines bactéries telluriques se comportaient en parasites des hyphes.

Des travaux similaires sur les carpophores de Basidiomycètes n'ont été réalisés que récemment par PICHE et al.(1976) chez *Coprinus comatus*.

Dans ce travail nous rapportons les résultats concernant les modifications subies par les spores de *C. atramentarius* soumises à l'action de la flore du sol.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Des fragments de carpophores ont été placés dans les pièges et incorporés dans un sol de serre sur lequel poussait de la luzerne. Des prélèvements de matériel fongique ont été effectués à des intervalles réguliers (de 3 à 45 jours). Les échantillons fixés à la glutaraldéhyde (1% pendant 16 heures) puis à l'acide

* Université Laval, Département de Phytologie, Laboratoire de Mycologie et de Microscopie électronique, Québec G I K 7P4 Canada.

** Université de Nancy-1, Laboratoire de Botanique et de Microbiologie, Case officielle N° 140, 54037 Nancy-Cedex France.

Source : MNHN, Paris

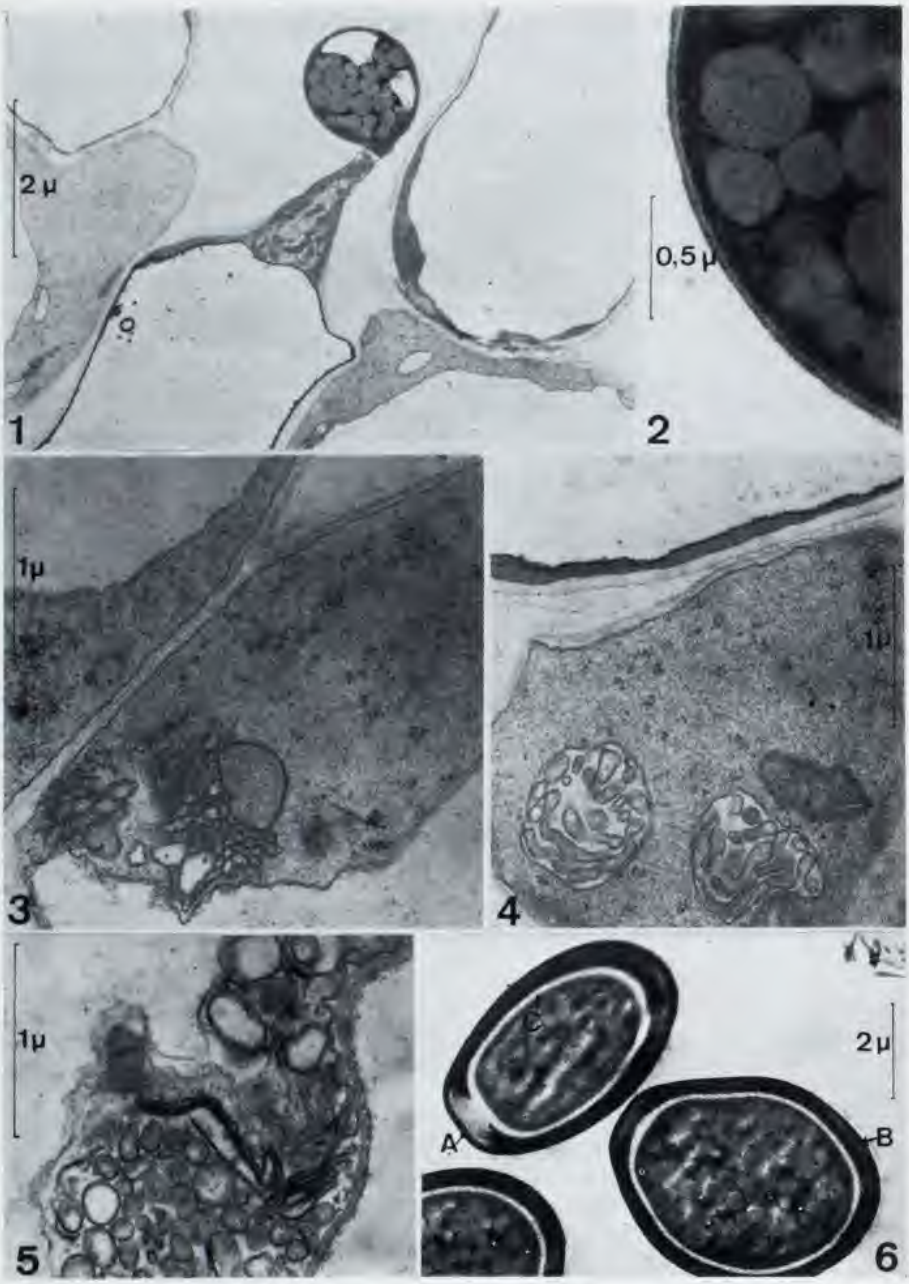


PLANCHE I

Fig. 1. — Jeune basidiospore encore attachée au stérigmate. Baside. — Fig. 2 : Jeune basidiospore. — Fig. 3, 4 et 5 : Formations membranaires dans la baside et les éléments sous-hyméniaux. — Fig. 6 : Basidiospores. Couche A, B et C de la paroi.

Source : MNHN, Paris

osmique (1% durant 4 heures), sont déshydratés et inclus dans l'Épon. Des coupes fines réalisées à l'aide de couteaux de verre ont été contrastées au citrate de plomb (REYNOLDS 1963).

RÉSULTATS

L'étude du témoin révèle la présence de spores d'âges différents. Certaines, encore portées par le stérigmate, (Figure 1) présentent une paroi mince dont la densité aux électrons est plus élevée que celle de l'enveloppe cellulaire des basides (Fig. 2). Le cytoplasme est très dense et renferme de nombreuses gouttelettes lipidiques (Fig. 1 et 2). Les basides et les éléments sous-hyméniaux possèdent généralement de grandes vacuoles ainsi que les organites habituels (Fig. 1, 3 et 4). On peut également reconnaître des vésicules membranaires semblables à celles signalées par EYME et PARRIAUD (1970) chez *Clathrus cancellatus* (Fig. 3 et 4) ainsi que les membranes à profil rectiligne (Fig. 5). Ces dernières sont particulièrement abondantes au cours des stades précédant l'autolyse.

La paroi hyphale est toujours mince et sa densité aux électrons semble augmenter avec l'âge. Par contre l'enveloppe sporale est fortement différenciée à maturité. Dans le genre *Coprinus* elle présente des strates différentes décrites par de nombreux auteurs (HEINTZ et NIEDERPRUEM 1971, HUGUENEY 1972, 1975, BESSON et KUHNER 1972 a, KUHNER 1973, OLAH et REISINGER 1974, etc...). Ces strates peuvent être reconnues sur les diverses figures que nous présentons (Fig. 6, 7, 8, 9). Il n'en reste pas moins, que d'une manière générale, l'architecture de la paroi sporale rappelle celle des conidies. Chez ces dernières nous avons retenu trois sous-unités (= couches) différentes selon leur origine, leur rôle et les modifications qu'elles subissent ultérieurement (REISINGER 1972, REISINGER et KILBERTUS 1973, MANGENOT et REISINGER 1976). Dans le cadre de nos expériences de biodégradation, nous subdivisons de manière semblable la paroi des spores de *C. atramentarius*. Nous désignons trois couches principales de l'extérieur vers l'intérieur par les lettres A, B, C (Fig. 6, 7, 8, 11).

Le plasmalemme des spores dormantes présente de nombreuses invaginations (Fig. 9, 10) qui sont semblables à celles décrites chez divers champignons (STOCKS et HESS 1970, GRIFFITHS 1971, HEINTZ et NIEDERPRUEM 1971, REISINGER 1972, etc...).

Le pore germinatif et le hile constituent les zones de moindre résistance. A ces endroits l'uniformité de la paroi est rompue (Fig. 7 et 8).

Le pore germinatif chez les Coprinacées a été décrit par BESSON et KUHNER (1972 b). Chez *C. atramentarius* il est constitué par un bouchon à structure lâche, transparent aux électrons et recouvert par la zone A mélanisée (Fig. 7 et 8). Lors de la déshydratation, la partie sommitale s'invagine (Fig. 11

Source : MNHN, Paris

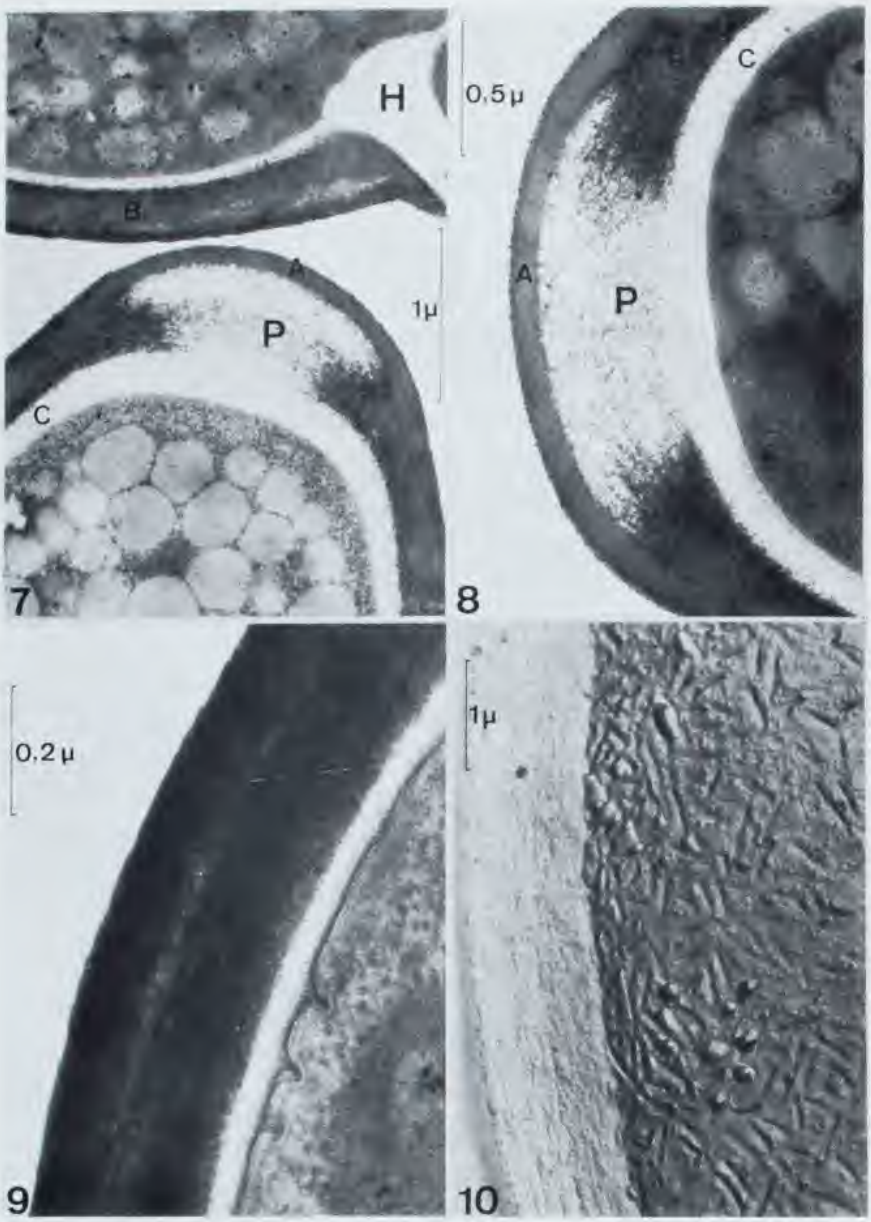


PLANCHE II

Fig. 7 : Endroits de moindre résistance : hile (H) et pore germinatif (P). Couches de la paroi sporale (A, B, C). — Fig. 8 : Structure du pore germinatif. — Fig. 9 : Paroi sporale et invaginations du plasmalemme. — Fig. 10 : Cryodécapage. Face externe du plasmalemme et invaginations.

Source : MNHN, Paris

et 12) de la même manière que chez les conidies de *Helminthosporium spiciferum* (REISINGER 1972).

Le hile, habituellement obstrué par des substances peu structurées (Fig. 7) peut dans certains cas être imparfaitement fermé. Des spores présentant de telles anomalies subissent une lyse rapide chez *C. comatus* (PICHE et al.1976).

Dans le sol, les carpophores sont rapidement désorganisés et après 10 jours d'incubation il n'en persiste plus que des sous-produits contenant de nombreuses bactéries (Fig. 16). Ces dernières, pendant la durée de l'expérience, ne pénètrent dans les spores que par l'intermédiaire du hile qui constitue apparemment le point le plus sensible. Leur activité dans la cellule aboutit à une métabolisation des résidus du cytoplasme et à une lyse rapide et totale de la couche apigmentée C (Fig. 13) ainsi qu'à la disparition des constituants du pore germinatif. Les extrémités fibrillaires et mélanisées de la couche B pénétrant dans cette zone apicale (Fig. 8) persistent (Fig. 13). En l'absence de bactéries, à l'intérieur des spores vidées (Fig. 14), on n'observe qu'une altération partielle de la couche C.

Par la suite ce sont les parties pigmentées de la couche B qui sont attaquées. Les modifications constatées alors sont ponctuelles et apparemment restreintes aux zones proches des procaryotes (Fig. 15). A ce stade, elles n'intéressent pas la couche A.

CONCLUSIONS

Sous l'effet de l'autolyse et de la flore microbienne, les constituants des carpophores disparaissent très rapidement. Seules les spores persistent un certain temps. Les modalités d'invasion de ces spores par les procaryotes sont apparamment différentes de celles observées chez les conidies. En effet, pendant la durée de l'expérience, nous n'avons jamais vu de perforations de la paroi comparables à celles décrites par OLD (1969), REISINGER (1972), REISINGER et KILBERTUS (1973). Dans le matériel observé, la pénétration des bactéries s'effectue uniquement par l'intermédiaire du hile. Elle est suivie par une métabolisation des constituants du cytoplasme et par une prolifération rapide des germes.

Comme chez tous les autres champignons étudiés, la dégradation de la paroi s'effectue de l'intérieur vers l'extérieur. On assiste en premier lieu à la disparition de la couche apigmentée (C) interne. Ensuite la fraction pigmentée (B) subit des lyses ponctuelles qui s'étendent probablement au cours des stades ultérieurs. Durant cette attaque, la couche A recouvre complètement les zones altérées ce qui prouve une résistance élevée.

Cette couche A entoure totalement la spore, à l'exception du hile. Son absence à cet endroit facilite probablement la pénétration bactérienne alors que sa présence l'empêche certainement au niveau du pore germinatif.

Source : MNHN, Paris

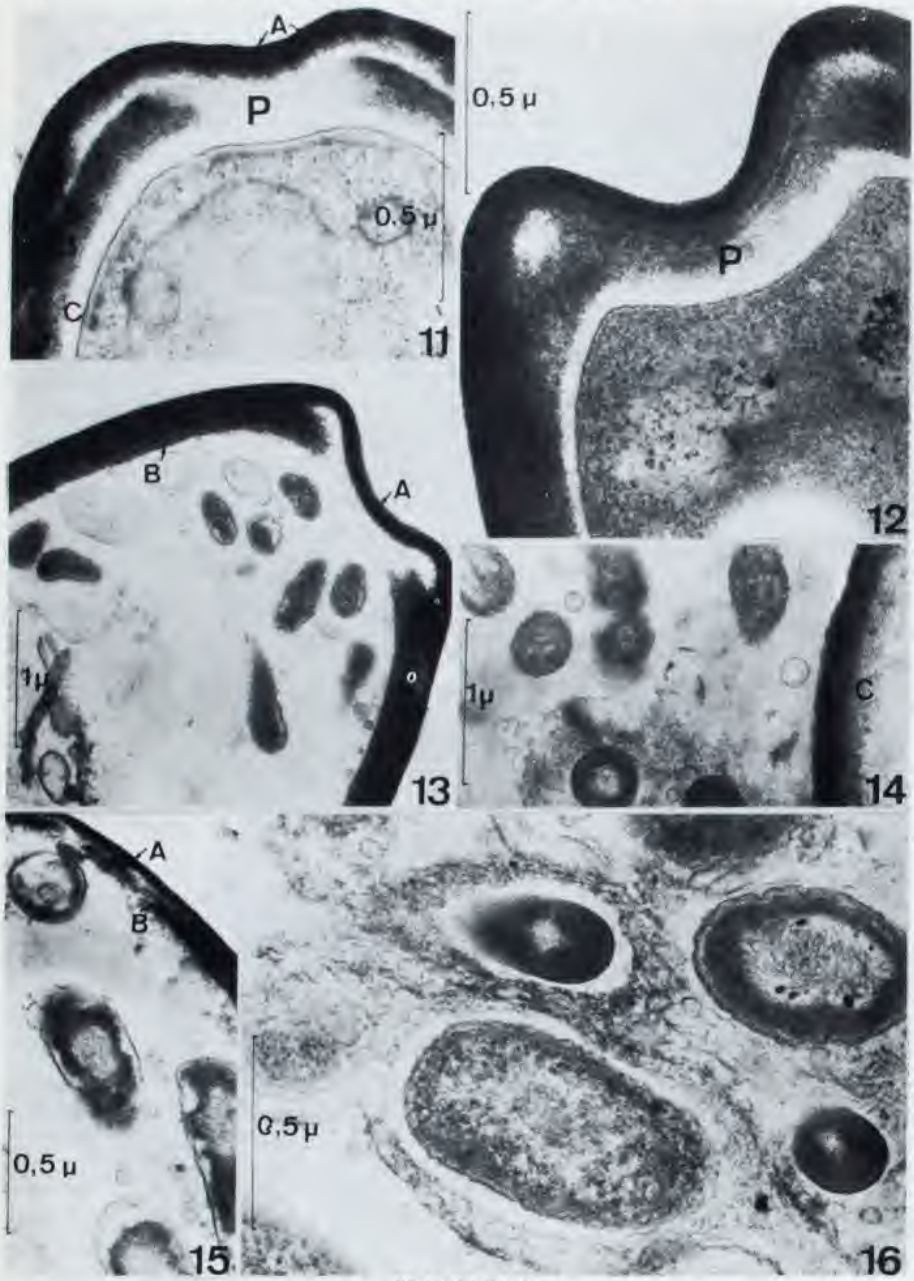


PLANCHE III

Fig. 11 et 12 : Basidiospores : pore germinatif (P) (10 jours d'incubation). — Fig. 13 : Développement des bactéries dans certaines spores. Lyse de la couche apigmentée C et du bouchon apical (4 jours d'incubation). — Fig. 14 : Population bactérienne et fraction de paroi d'une basidiospore non envahie par les procaryotes. Noter la persistance de la couche C (10 jours d'incubation). — Fig. 15 : Lyse ponctuelle de la couche pigmentée B. La couche A ne subit pas d'altérations notables à ce stade (14 jours d'incubation). — Fig. 16 : Bactéries se développant aux dépens des résidus des carpophores (10 jours d'incubation).

Source : MNHN, Paris

Au cours de cette dissection enzymatique *in situ*, la paroi de la basidiospore se comporte de la même manière que celle des conidies. On ne peut y reconnaître en effet que trois sous-unités distinctes selon leur degré de résistance à l'altération sous l'effet des bactéries.

Exception faite de l'endroit préférentiel de pénétration, la décomposition des spores de *C. atramentarius* s'effectue selon les mêmes modalités que celles observées chez les organes mélanisés des Champignons Imparfaits.

REMERCIEMENTS

L'étude des coupes fines a été réalisée au Laboratoire de Microscopie Électronique de l'Université de Nancy 1. Nous exprimons nos plus vifs remerciements à son Directeur, Monsieur le Professeur G. GRIGNON pour l'aide qu'il nous a apporté au cours de ce travail. Nous remercions également Mme M. SIMONETTI, Mme J. CHANAL et M. L. MARCHAL pour leur aide technique.

BIBLIOGRAPHIE

BESSON M., KUHNER R., 1972 a — La paroi sporique chez les Coprinacées (Agaricales) *C. R. Acad. Sci.* Paris D, 275 : 21-25.

BESSON M., KUHNER R., 1972 b — Recherche sur la structure du pore germinatif des Coprinacées (Agaricales). *C. R. Acad. Sci.* Paris D, 274 : 1-5.

CLOUGH K., PATRICK Z. A., 1972 — Naturally occuring perforations in chlamydospores of *Thielaviopsis basicola* in soil. *Canad. J. Bot.* 50 : 2251-2253.

EYME J., PARRIAUD H., 1970 — Au sujet de l'infrastructure des hyphes de *Clathrus cancellatus* Tournefort, Champignon Gastéromycète. *C. R. Acad. Sci.* Paris, D, 270 : 1890-1892.

GRIFFITHS D. A., 1971 — The fine structure of basidiospores of *Panaeolus campanulatus* (L.) Fr. reavealed by freeze-etching. *Arch. Microbiol.* 76 : 74-82.

HARRANGER M. F., 1975 — Décomposition de *Pyrenochaeta lycopersici* dans le sol et les débris de racines. Étude ultrastructurale. Thèse Spec. Biol. Veg., Université de Nancy.

HARRANGER M. F., OLAH G. M., REISINGER O., MANGENOT F., 1976 — Études ultrastructurales et expérimentales de la survie des champignons phytopathogènes dans le sol. I. Effet de deux amendements différents sur le mycélium libre de *Pyrenochaeta lycopersici* Gerlach et Schneider. *Can. J. Microbiol.* (sous presse).

HEINTZ C. E., NIEDERPRUEM D. J., 1971 — Ultrastructure of quiescent and germinated basidiospores and oidia of *Coprinus lagopus*. *Mycologia* 63 : 745-766.

HUGUENEY R., 1972 — Ontogenèse des infrastructures de la paroi sporique de *Coprinus cineratus* Quél. var. *nudisporus* Kühner (Agaricales). *C. R. Acad. Sci.* Paris D, 275 : 1495-1498.

HUGUENEY R., 1975 — Morphologie ultrastructurale et développement de l'apicule des spores de quelques Coprinacées. Étude particulière du *punctum lacrymans*. *Bull. Soc. Linn.* Lyon 8 : 249-256.

KUHNER R., 1973 — Architecture de la paroi sporique des Hyménomycètes et de ses différenciations. *Persoonia* 7, 217-248.

Source : MNHN, Paris

MANGENOT F., REISINGER O., 1976 — Form and function of conidia as related to their development. *In* The Fungal Spore : Form and Function Ed. D.J. WEBER and W.M. HESS (Sous presse).

OLAH G. M., REISINGER O., 1974 — L'ontogénie des téguments de la paroi sporale en relation avec le stérigmate et la gouttelette hilaire chez quelques Agarics mélanosporés. *C. R. Acad. Sci.* Paris D, 278 : 2755-2758.

OLD K. M., 1969 — Perforation of conidia of *Cochliobolus sativus* by natural soil. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 53 : 207-216.

PICHE Y., SOKOLSKI S., KILBERTUS G., REISINGER O., 1976 — Étude des premiers stades de la décomposition de *Coprinus comatus* (Müll. ex Fr.) Gray. *C. R. Acad. Sci.* Paris D (Sous presse).

REISINGER O., 1972 — Contribution à l'étude ultrastructurale de l'appareil sporifère chez quelques Hyphomycètes à paroi mélanisée. Genèse, modifications et décomposition. Thèse Doct. Sci. Nat., Université Nancy 1.

REISINGER O., KILBERTUS G., 1973 — Biodégradation et Humification. III. Libération des granules. Modèle expérimental en présence de bactéries. Conclusions générales. *Soil Biol. Biochem.* 5 : 187-192.

REYNOLDS E. S., 1963 — The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell. Biol.* 17 : 208-212.

STOCKS D. L., HESS W. M., 1970 — Ultrastructure of dormant and germinated basidiospores of species of *Psilocybe*. *Mycologia* 62 : 176-191.

WONG J. N. F., OLD K. M., 1974 — Electron microscope studies of the colonization of conidia of *Cochliobolus sativus* by soil microorganisms. *Soil Biol. Biochem.* 6 : 89-96.

Source : MNHN, Paris

QUELQUES CAS TÉRATOLOGIQUES OBSERVÉS CHEZ DES LABOULBÉNIALES (ASCOMYCETES)

par J. BALAZUC *

Nous présentons quelques cas d'anomalies observés dans notre matériel de Laboulbéniales :

– Celui de notre fig. 1 concerne une *Laboulbenia flagellata* Peyritsch, 1873, subsp. *elongata* (Thaxter, 1890), parasite d'un *Neocolpodes* sp. (Coleopt. Carab. *Pterostichidae*) de Madagascar : Manjarivolo, massif de l'Andringitra sud, 1650m., X/XI 1970, A. DESCARPENTRIES leg. Au lieu des cellules I (basale) et II (prébasale) superposées, on en compte trois, cunéiformes, situées côte à côte avec toutefois un étagement qui fait que la plus ventrale n'atteint pas la cellule VI, tandis que la plus dorsale ne descend pas aussi bas que les autres.

– La fig. 2 a déjà été publiée par nous (Laboulbéniales de France, *Bull. Soc. linn. Lyon* 43, 1974, n° 2, p. 58, fig. 24). Il s'agit ici d'une *L. flagellata* recueillie sur *Agonum (A.) moestum* Duft. (Coleopt. Carab. *Pterostichidae*) de Percey le Pautel (Hte Marne), dont l'androstiche est anormal. On n'observe pas de cellule V dans l'angle supéro-interne de la cellule VI. Par contre une cellule s'est développée entre la partie supérieure de la cellule III et la partie inférieure de la cellule IV d'une part, la base du périthèce d'autre part, provoquant un écartement des appareils mâle et femelle.

– La fig. 3 représente un spécimen de *L. fasciculata* Peyritsch, 1873, prélevé sur un élytre de *Parachlaenius emini* Kolbe (Coleopt. Carab. *Callistidae*, espèce termitophile) du Cameroun : Babadjou, Mts Bamboutos, 29-XI-1969, P. de MIRÉ leg. L'anomalie consiste en la présence d'un appareil mâle surnuméraire inséré ventralement sur la cellule prébasale du réceptacle, et composé d'un axe de 8 cellules dont les 3ème, 4ème et 5ème portent chacune un appendice semblable aux appendices normaux, mais plus réduit. Le plus distal d'entre eux est muni d'une paire d'anthéridies, moins développées que celles de l'appareil normal.

* 6, rue Alphonse Daudet F 95600 Eaubonne.
(Laboratoires d'Entomologie et de Cryptogamie du Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris).

Source : MNHN, Paris

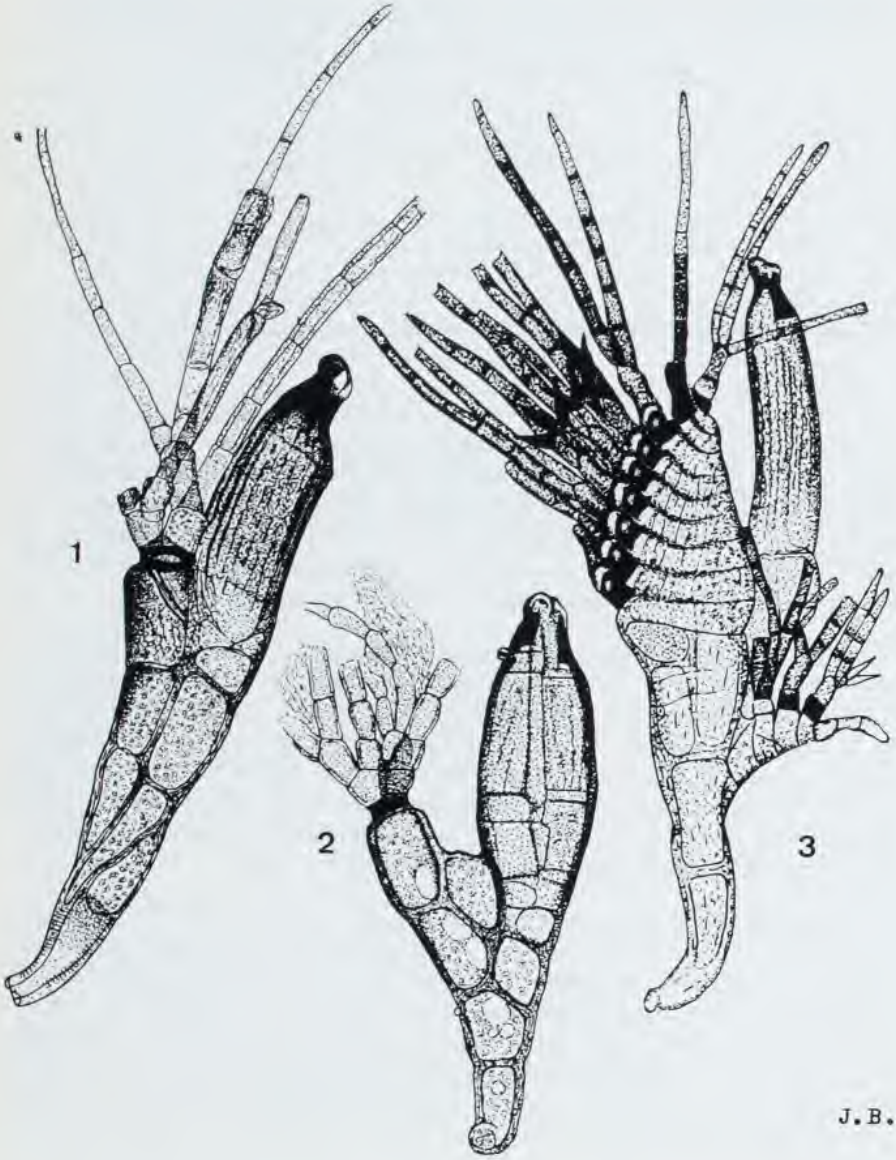


Fig. 1 : *Laboulbenia flagellata elongata* Thaxt. à réceptacle anormal, X 240. Fig. 2 : *L. flagellata* Peyr. à androstiche anormal, X 235. Fig. 3 : *L. fasciculata* Peyr. à appareil mâle surnuméraire inséré sur la cellule II, X 130.

Source : MNHN, Paris

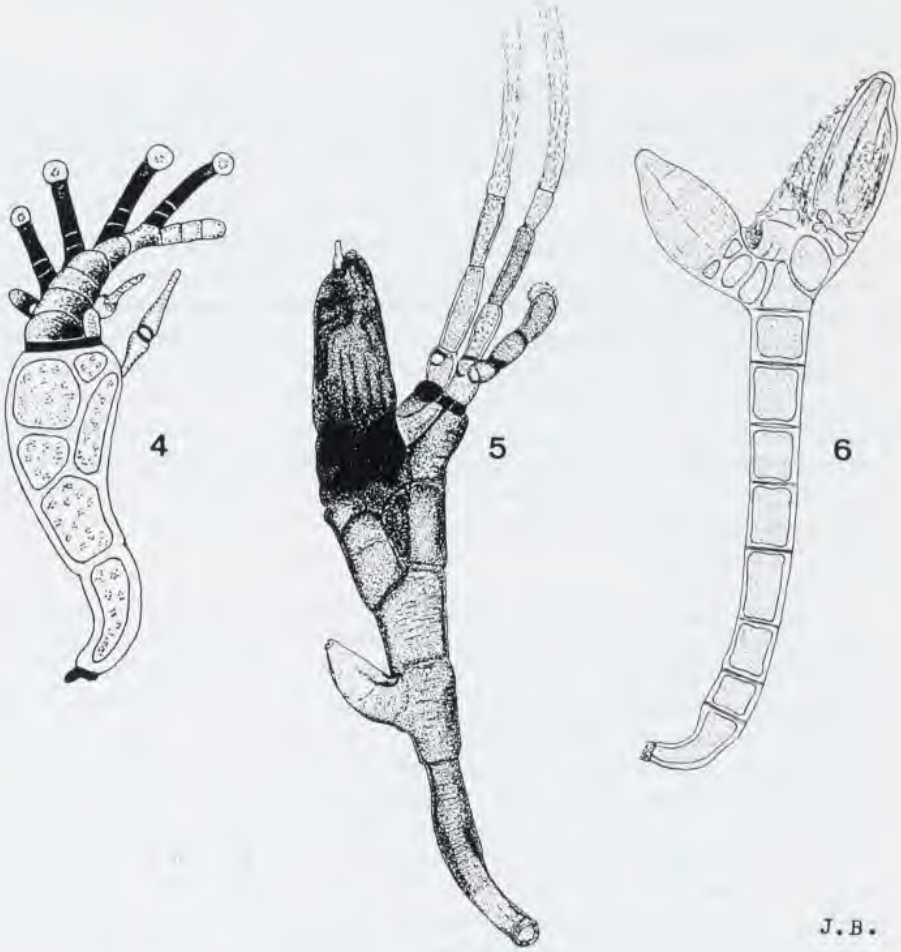


Fig. 4 : *Laboulbenia diademata* n. sp. juv., à périthèce remplacé par une anthéridie, X 280. Fig. 5 : *L. proliferans* Thaxt. à périthèce surnuméraire inséré sur la cellule II, X 200. Fig. 6 : *Ormomyces clivinae* Thaxt. à deux périthèces, X 166.

— Le spécimen que montre notre fig. 4 est un individu jeune d'une espèce encore inédite : *Laboulbenia diademata* n. sp., parasite de *Glaphyrocanthon candezei* Harold (Coleopt. *Scarabaeidae*) de St Laurent du Maroni, Guyane française, 3-VIII-1975, P. ARNAUD leg. Sur l'apex de la cellule VI, au lieu de l'ébauche du périthèce, on observe une anthéridie.

Nos deux dernières observations concernent des périthèces surnuméraires chez une *Laboulbenia* et chez une *Ormomyces* (genre inédit résultant du démembrement du gen. *Misgomyces* par Miss I. TAVARES).

Source : MNHN, Paris

– Fig. 5 : Cette *L. proliferans* Thaxter, 1893, provient d'un *Trichochlaenius aeratus* Quensel, var. *varvasi* Cast. (Coleopt. Carab. *Callistidae*) de Collo (Algérie). Un périthèce immature naît latéralement de la cellule II.

– Fig. 6 : Un *Ormomyces clivinae* (Thaxt. 1931), sur *Clivinia* sp. (Coleopt. Carab. *Scaritidae*) d'Ambodivoangy (Madagascar), VIII-1945, J. VADON leg., possède deux périthèces également développés, chacun avec son appareil basal au complet.

D'assez nombreux cas d'anomalies structurales ont été décrits chez ces Champignons parasites et certaines de celles que nous figurons connaissent des précédents. Mais il faut noter au préalable que l'on doit réserver le terme d'«anomalies» à des modifications exceptionnelles réalisant une dénaturation du modèle générique ou spécifique. La présence de périthèces multiples, par exemple, est un caractère normal dans certains genres. Chez les *Rhacomyces*, le périthèce est généralement unique, mais la multiplicité est quasi constante chez *R. proliferans* et très fréquente chez *R. philonthinus*. Chez les *Laboulbenia* il semble que certaines espèces soient particulièrement disposées à développer des formations surnuméraires. En tout cas c'est *L. proliferans* qui en a fourni le plus d'observations (1).

On trouve dans la littérature des cas comparables à celui de notre fig. 3. La *Laboulbenia rougeti* Mont. et Rob. de COLLA (1934) a un rameau anthéridiifère issu de la cellule II; chez la *L. proliferans* de MIDDELHOEK (1951), des rameaux anthéridiifères naissent des cellules III et V. L'anomalie de la *L. brachyni* Thaxt. de SPEGAZZINI (1912) est plus complexe : trois branches anthéridiifères naissent de la cellule II, une quatrième de la cellule VI. Dans d'autres observations (THAXTER, COLLA) l'appareil mâle supplémentaire s'implante à la base d'un périthèce accidentellement détruit, traverse de bout en bout un périthèce dépourvu de cellules ascogènes, ou encore se substitue purement et simplement à cet organe. Chez la *L. flagellata* de SCHELOSKE (1969) il est visible que, comme dans une partie des cas ci-dessus, l'on a affaire à une régénération hétéromorphique après mutilation accidentelle. Mais cette explication ne saurait valoir pour la généralité des cas et il nous semble qu'il faille plutôt incriminer une aberration cytogénétique.

(1) Ceci nous fournit l'occasion de rectifier une erreur que nous avions commise. C'est à tort que nous avons parlé de *Laboulbenia flagellata* tératologiques dans « Laboulbéniales de France », *Bull. Soc. linn. Lyon* 43, 1974, 2 : 59, note 1, à propos des parasites des Carabiques *Platysma* et *Oreoplatysma* : il s'agit de *L. proliferans*, espèce chez laquelle la multiplication de la cellule V est un caractère normal. Notre erreur venait précisément de ce que, dans les populations observées, la quasi totalité des *L. proliferans* avaient « anormalement » une cellule V unique.

Source : MNHN, Paris

BIBLIOGRAPHIE

BANHEGYI J., 1944 — *Bot. Közl.* 41, 1-2 : 56 et 60.
COLLA S., 1934 — *Flora ital. crypt.*, Laboulb., fig. 4.
MIDDELHOEK A., 1951 — *Biol. Jaarb. Dodonaea* 18 : 124, fig. 4.
PICARD F., 1913 — *Bull. Soc. myc. Fr.* 4 : 531-535, pl. 31, fig. 13-19.
SCHELOSKE H. W., 1969 — *Paras. Schrift.* 19 : 121, fig. 25.
SPEGAZZINI C., 1912 — *An. Mus. nac. Hist. nat. B. Aires* 23 : 170, fig. 1.
SPEGAZZINI C., 1915 — *id.* 26 : 461-462.
THAXTER R., 1902 — *Mem. Amer. Ac. Arts Sci.* 12, 3 : 237-239, pl. 2, fig. 7-10.
THAXTER R., 1908 — *id.* 13, 6 : 232-233.

Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

AMPAROINACEAE AND MONTAGNEACEAE

by R. SINGER *

RÉSUMÉ. — Deux familles nouvelles de Gastéromycètes sont proposées, Amparoinaceae et Montagneaceae. La première est affine aux agarics leucosporés marasmioides et mycénoides; la seconde est affine aux agarics mélanosporés coprinioides et panaeoloides.

I. AMPAROINACEAE

In 1952 we (SINGER & DIGILIO, *Lilloa* 25 : 216) have described a species of what we then thought was a *Marasmius : M. spinosissimus* Sing. After a thorough study of the neotropical and temperate South American (see SINGER R. *Sydowia* 18 : 106-358, 1965 with additions in preparation) and Congo (*Bull. Jard. Bot. de l'État de Bruxelles* 34 : 317-388, 1964) Marasmii, I saw that *M. spinosissimus* had no affinity with any other section so that a genus *Amparoina* was proposed to accomodate this species. *Amparoina spinosissima* (Sing.) Sing. (*Mycologia* 50 : 110, 1958) is remarkable by a number of anatomical characteristics, particularly the detersile spines covering the carpophore and the sporulation taking place at a stage when the carpophore is still close; when it opens no more spores are formed and few basidia can be found at a fully exposed state of the «pileus», but a remarkable development of the subhymenial cells takes place; this development was then interpreted as the beginning of bulbillosis. However, when a second species, here described as *A. heteracantha* Sing. was discovered which showed the same early sporulation, it became clear that my initial interpretation was erroneous and that both the sporulation inside a peridium and a strong development of the subhymenium must be interpreted as characterizing a secotiaceous Gasteromycete. On the other hand, the presence of lamellate hymenophore, the habit and the spore color (or rather lack of a pigment) as well as the diverticulate cuticular elements are significantly marasmioid and mycenoid. Among the Agaricales, *Amparoina* should be compared with *Marasmius* Fr. and *Cyptotrama* Sing. and perhaps even more with *Mycena* sect. *Sacchariferae* Kühner which differs in amyloid spores and late sporulation. There can hardly be any doubt that we have here

* University of Illinois at Chicago Circle and Field Museum of Natural History, Chicago.

Source : MNHN, Paris

a new and very important link between secotiaceous gasteromycetes and marasmioid or mycenoid agarics. I do not wish, at this point, to enter the question as to whether we have to think of this bridge as a link leading from Gasteromycetes to Agaricales or vice versa. However, *Amparoina* is certainly separated from other secotiaceous fungi by a hiatus which justifies the erection of a new family Amparoinaceae. Among the Gasteromycetes, *Amparoina* appears to be closely related to *Hemigaster* Juel which, however, has not been restudied since JUEL's description of its development (and has been interpreted as a young *Coprinus* by BRESADOLA). If JUEL's data are taken at face value, *Hemigaster* may well belong in the family Amparoinaceae, representing a non-lamellate genus without the characteristic spines. This interpretation is tentative, however, and requires a modern revision of the characters defining *Hemigaster*.

Amparoinaceae Sing. fam. nov. :

Carpophoris agaricoideis pileato-stipitatis, pigmento fere destitutis, minutis. Peridio duplici, externo spinosissimo, interno ex hyphis latis pseudoamyloideis efformato. Hymenophoro praesente, e lamellis radiantibus angustis, subliberis efformato. Stipite initio columelliformi dein elongato, spinoso-farinaceo, insititio vel subinsititio. Margine peridiali primum stipiti affixo, demum a stipite separato qui demum pileoliformis, convexus, campanulatus, conicus evadit. Sporis ± asymmetricis, ellipsoideis, hyalinis, mediocriter voluminosis, levibus, inamyloideis. Basidiis subhymeniformiter vel hymeniformiter dispositis sed quando margo a stipite separatur collabentibus et sparsioribus, sporulatione statu angiocarpico limitate, sterigmatibus semifalciformibus usque ad quator sed numero variabili, paucis filiformibus. Subhymenio cellulari post collapsum basidiorum exoposito; hyphis stipitis longitudinaliter parallelis, fibulatis, pseudoamyloideis. Tegumento detersibili spinoso ex elementis subisodiametricis aut elongatis, saepe diverticulatis consistente. Ad ligna in regionibus neotropicalibus et subtropicalibus. Typus familiae : Amparoina *Sing.*

Amparoina Sing. *Mycologia* 50 : 110, 1958. Characters of the family. Type species : *A. spinosissima* (Sing.) Sing.

Amparoina heteracantha Sing. spec. nov. :

Peridio in strato externo pulverulento-detersibili, molli-spinoso, albo, minute albe-spinuloso basin versus, cum apice stipitis continuo, strato inferiore carnosulo, tenui, albo; pileiformi, forma pilei campanulata, altitudine et latitudine ± 2.5-3 mm. Stipite-columella e basi insititia ad apicem carpophori percurrente, ad basin incrassata, subcarnosa, albo, pulverulentia vellerea alba tecta, evelata, 8 × 1.5 mm ad apicem 0.6 mm lato. Hymenophoro (gleba) lamellari, lamellis aequalibus, albis, subliveris, angustis sed haud pliciformibus, confertis vel confertiusculis. Sporis ante apertura expositioneque hymenophori formatis, heterotropicis vel paene orthotropicis, ellipsoideis, depressione applanationeque suprahilari destitutis, (6)-7.5-10 × (4)-5-6.5 µm, levibus, membrana tenui homogenea, rarius (ornementatione XI) leniter heterogenea, inamyloidea, acyanophila,

Source : MNHN, Paris

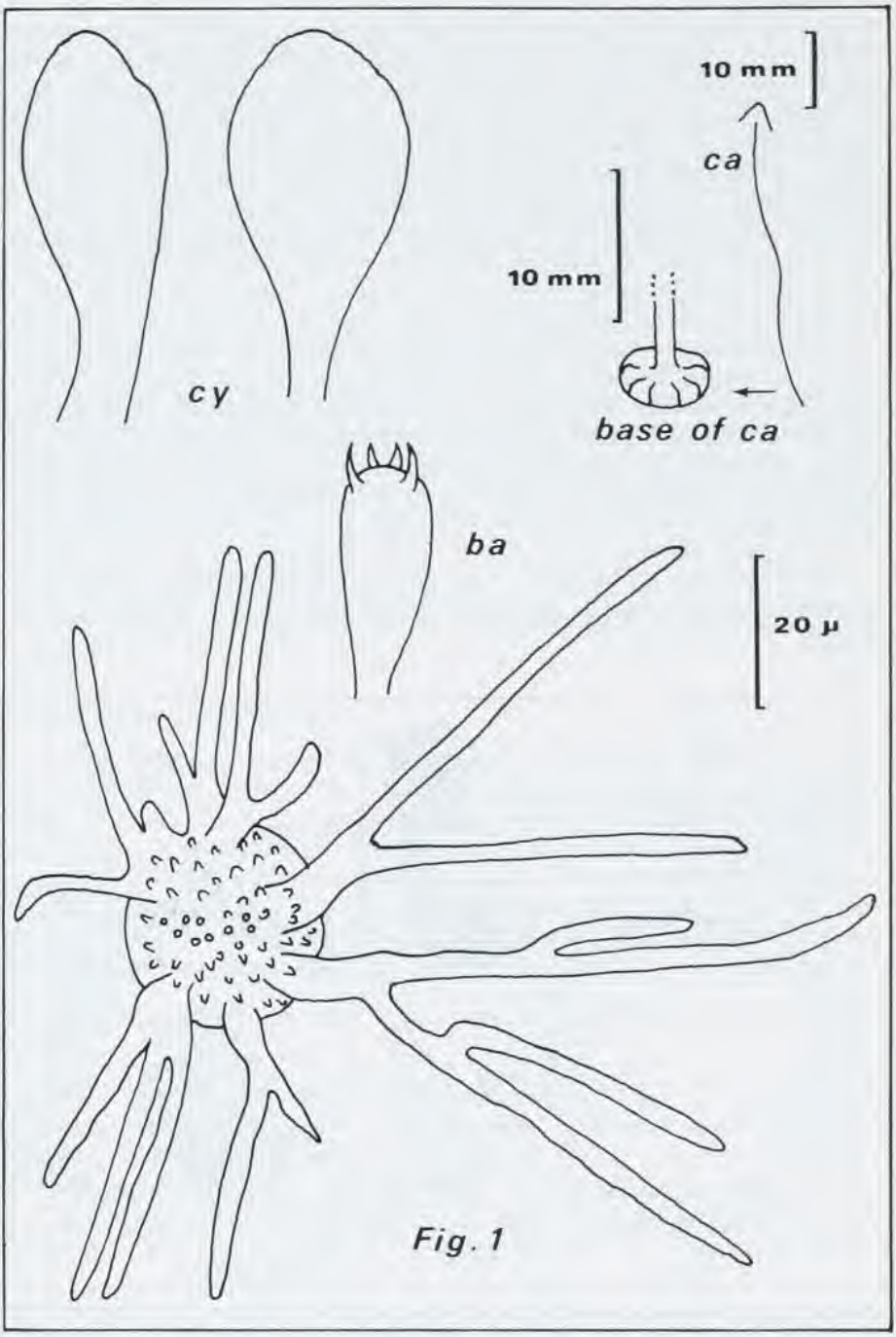


Fig. 1. — *Mycenia biornata* Sing. Upper part : ca : carpophore, base of the carpophore; cy : cystidia; ba : basidium; below : elements of the covering of the pileus.

Source : MNHN, Paris

hyalina instructis; basidiis sporas haud ejaculantibus, 14-16 X 8-9.5µm, sterigmatibus 1-4, plerumque semifalceolatis sed nonnullis filiformibus; cystidiis nullis; cheilocystidiis nullis. Hyphis hyalinis, pseudoamyloideis, fibulatis, subtenuitunicatis, haud gelatinosis, latiusculis, sed e cellulis filiformiter elongatis consistentibus, in stipitis tramate parallelis. Peridii strato externo e spinis et spinulis consistente; spinis ex hyphis subparallelis tenuiter vel crassiuscule tunicatis axillaribus pseudoamyloideis efformatis quae in superficie spinularum emittunt cellulas ellipsoideas vel globosas saepius catenulatas quae 20-55µm latae et diverticulis 1-2µm longis asperulatae sunt et frequenter praeterea spinulas microscopicas acutas (0-16) 15-23 X 5-7µm gerunt, his spinulis etiam diverticuligeris sed nonnullis spinulis maioribus haud diverticulatis, parietibus crassis ornementationesque horum elementorum tegumenti inamyloideis. Strato interno ex hyphis brevi-cellulatis, latis consistente. Stipitis tegumento e pilis unicellularibus minute sed conspicue diverticulatis tenuitunicatis inamyloideis, 125-210 X 14-18µm ad basim nec non ad apicem obtusam leniter attenuatis efformato, diverticulis eas Mycenae osmundicolae *in mentem revocantibus, 1-2µm longis, tenuissimis, hyalinis. Typus a R. SINGER in columbia lectus (B 6250, F).*

Material studied : COLOMBIA : Valle : Buenaventura, San Joaquin, on woody branches in virgin tropical coastal farn forest, leg. SINGER B 6250 (F), 19-IV-1968.

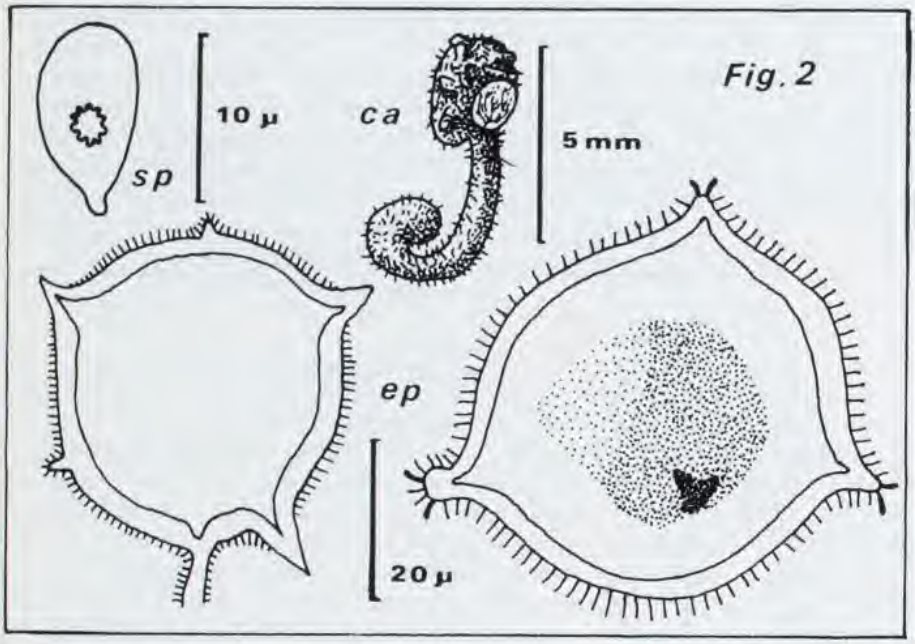


Fig. 2. — *Amparoina heteracantha* Sing., ca : carpophore (lower part of the peridium cut off to show the lamellate gleba); sp : spore; ep : elements of the covering of the peridium.

Source : MNHN, Paris

This species differs from *A. spinosissima* in the structure of the outer layer of the covering of the carpophore and especially the peridium and the inamyloid outer wall-layer of the elements of the spines of the peridium; the carpophore is slightly smaller than that of *A. spinosissima* and the margin of the «pileus» is not sulcate. Futhermore, in the spores of *A. spinosissima* as well as in the subhymenial cells, a slight thickening in overly mature specimens has been observed. Fig. 1 and 2 show the similarity of the anatomy of *A. heteracantha* with *Mycena biornata* Sing. (*Beih. Sydowia*, in print).

II. MONTAGNEACEAE

In 1969 I have described two secotiaceous fungi (Beih. *Nova Hedwigia* 29 : 367-372) which were classified as *Panaeolopsis sanmartiniana* Sing. and *Polyplocium patagonicum* respectively. They were considered closely related to *Montagnea*, and *M. arenaria* (D. C.) Zeller and *M. argentina* (Speg.) Sing. were likewise described (*l. c.* p. 369). There can be no doubt that these fungi are all closely related with each other and that they likewise show affinities with the Coprinaceae of the Agaricales.

For this group of Gasteromycetes I propose now the new family Montagneaceae.

Montagneaceae Sing. fam. nov. :

Peridio piliformi; hymenophoro lamellari, stipite bene evoluto, elongato. Sporis obscuris, in pulvere subnigro, sub microscopio fuligineo vel atrosepiaceo, crasse tunicatis, levibus, poro germinativo praeditis; apobasidiis subhymeniformiter vel hymeniformiter dispositis; cystidiis nullis, sed cheilocystidiis et dermatocystidiis (ad stipitem) saepe praesentibus; hyphis fibulatis vel defibulatis; lamellis pulverascentibus. Terrestres, arenicolae, fimicolae. Typus familiae : Montagnea *Fr.* (= Montagnites *Fr.*). *Genera cetera :* Polyplocium *Berk. sensu Sing. (1969);* Panaeolopsis *Sing.*

The three genera indicated above can be distinguished in the following manner :

A. Clamp connections present; habit of *Panaeolus*; no volva . . . . . *Panaeolopsis*

A. Clamp connections present; tramal plates becoming pulverulent; habit not of *Panaeolus*; volva present

B. Stipe solid; volva thin applicate-cothurnate; tramal plates (lamellae) when dry transversally breaking up, broad and not recurved over the peridium . . . . . .*Polyplocium* (1)

(1) A revision of part of the type of *Polyplocium inquinans* at Beltsville (USDA) show some characters not consistent with those of *P. patagonicum*. However, the basidia form a true hymenium and the base of the basidia is clampless. It is possible that *Polyplocium patagonicum* should be separated as a new genus. The final disposal of *Polyplocium sensu originali* will also have a bearing on the question as to whether *Gyrophragmium* should eventually enter the family Montagneaceae.

Source : MNHN, Paris

B. Stipe stuffed, then hollow; volva cup-shaped; tramal plates either recurved over the top-side of the peridium or narrow and not breaking up . . *Montagnea*

The genus *Panaeolopsis* has the same relation to *Panaeolus* as *Weraroa* or *Galeropsis* to *Psilocybe*. It was thus far represented by a single species *P. sanmartiniana* Sing. known from two localities (Buenos Aires and Mendoza province) in Argentina. A second species has been discovered in Brazil. Both are here illustrated (Fig. 3 et 4) for comparison.

Panaeolopsis brasiliensis Sing. sp. nov. :

Peridio atrogriseo, longitudinaliter pectinato, sicco, anguste conico et ad apicem mucronato, 13 mm alto et 5 mm lato. Hymenophoro lamellari, lamellis nigris, altis, confertis, levibus, adnatis, haud pulverulentis vel minime pulverulentis. Stipite peridio concolori, cum peridio siccando pallid sordide griseolo, elongato, percurrente, subglabro, aequali, sed ad basim e mycelio basili strigosam pallido et bulbuloso, 30 × 2 mm; rhizomorphis albis sparsis. Sporis subglobosis et saepe Montagneae modo rotundato-subangularibus, lentiformiter compressis,

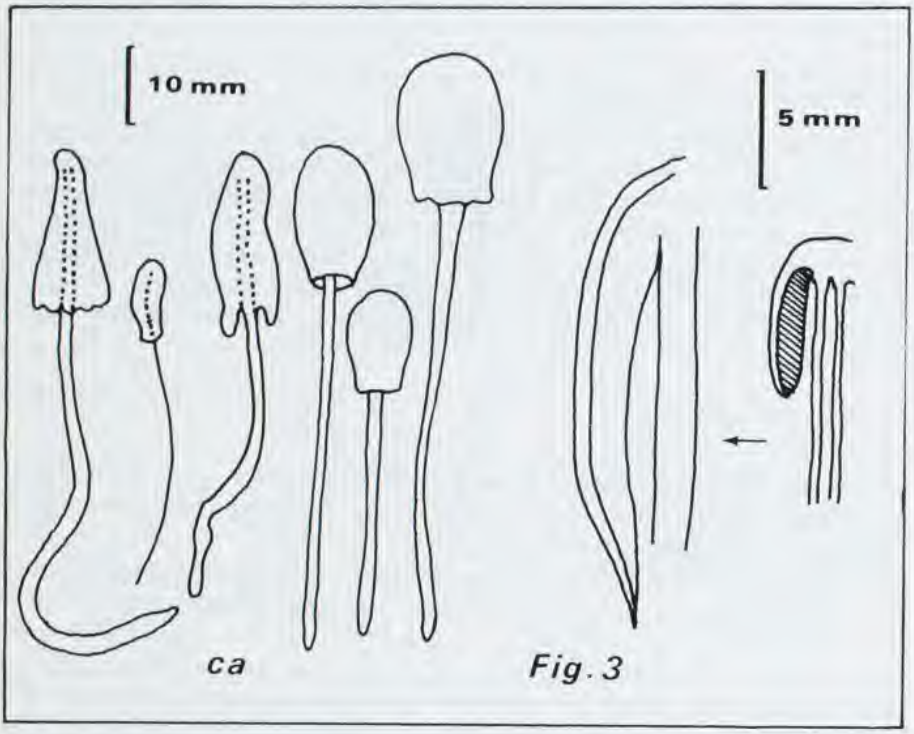


Fig. 3. — *Panaeolopsis sanmartiniana* Sing., ca : carpophores; detail of development of peridium at right.

Source : MNHN, Paris

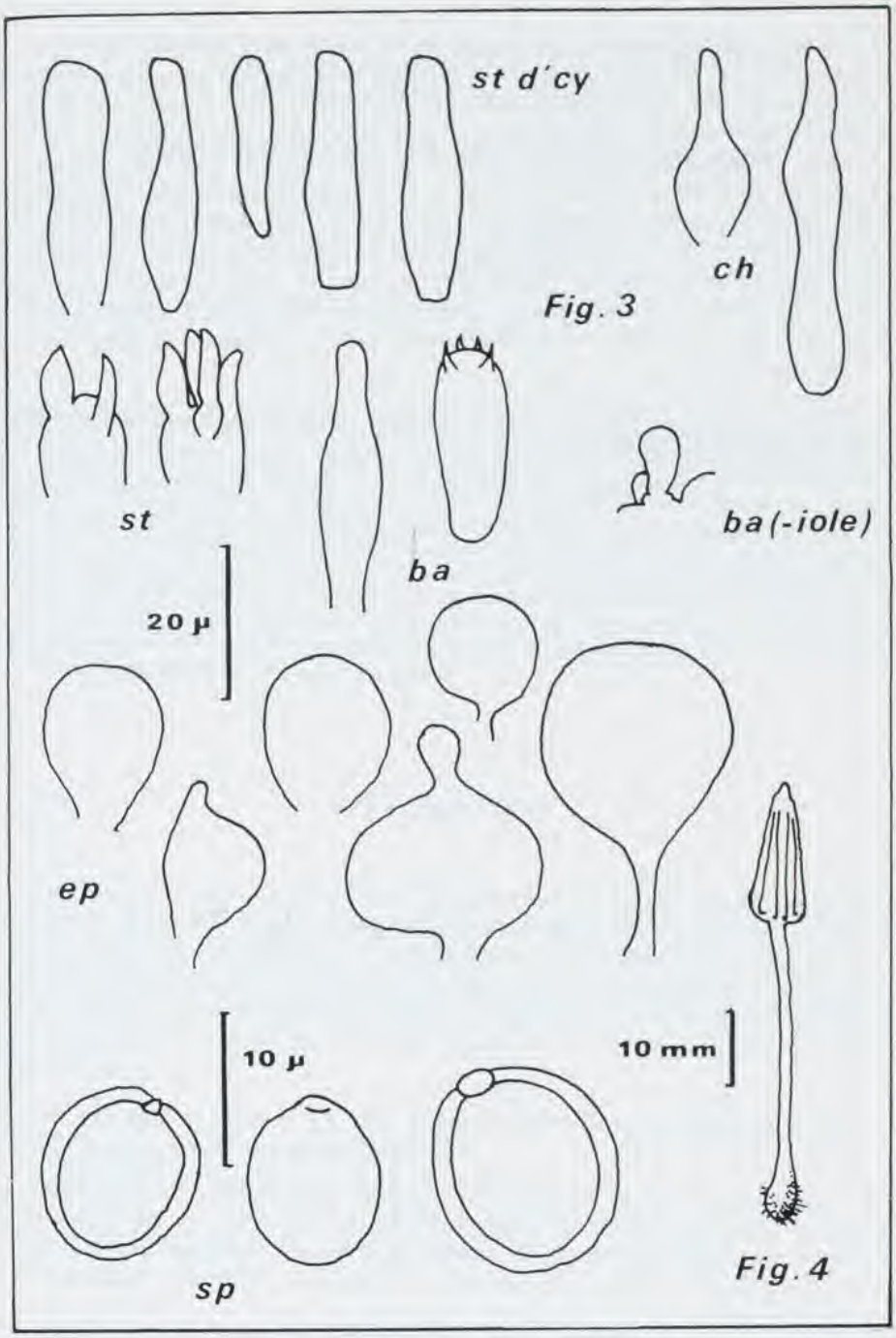


Fig. 3 (suite) — ba : basidia; ep : elements of the epicutis of the pileus; st. d'cy : dermatocystidia of the covering of the stipe; ch : cheilocystidia; st : sterigmata; ba (iole) : basidiole; sp. : spores. — Fig. 4 — *Panaeolopsis brasiliensis* Sing.; ca : carpophore.

Source : MNHN, Paris

lateraliter visis ellipsoideis, poro germinativo latissimo truncato instructis, atrospadiceis vel subatris (subopacis si subatrae sunt), levibus, membrana crassa, stratosa instructis, in H_2SO_4 *maturis vix pallescentibus, sed semimaturis luride lividis vel immutabilibus heterotropicis vel suborthotropicis, 12-16 × 11-14 × 7-10 µm. Basidiis subvesiculosis, hyalinis, 23-24.5 × 13-14 µm, sterigmatibus strictis vel curvatis, sporis haud dejectis et depositis sub hymenophoro. Cystidiis nullis; cheilocystidiis subsparsis ad aciem lamellarum, ampullaceis, hyalinis vel fuscidulis, ± 30 × 9 µm, ad apicem 5 µm latis. Hyphis fibuligeris, haud gelatinosis, inamyloideis, tramate hymenophorali regulari, pallide fuscidulo e pigmento incrustante. Epicute peridii hymeniformi, brunneola, e cellulis vesiculosis efformata. Ad arenam materia organica inmixta, vernalis in Brasilia. Typus in F conversatus est.*

Material studied : BRAZIL : Rio de Janeiro : Cabo Frio, near Canal, 16/17-X-1966, leg. Jezek, n° 28, (F).

Source : MNHN, Paris

ACTIVITÉS PROTÉOLYTIQUES DES SCLEROTINIA SCLEROTIORUM ET S. MINOR : ROLE POSSIBLE LORS DE LA PATHOGENESE

par K. B. KHARE et G. BOMPEIX *

RÉSUMÉ. — 1. Les trois techniques utilisées, méthode de Kunitz, viscosimétrie, diffusion sur disque de gélose, mettent facilement en évidence la forte activité protéolytique des *Sclerotinia minor* et *S. sclerotiorum*. — 2. Ces deux espèces produisent des protéases *in vitro* et *in vivo*, actives au pH de 3,0 et à la température de 40°. — 3. *In vitro* les isolats des deux espèces peuvent être distingués par la croissance nettement plus active du *S. sclerotiorum*. Seul le milieu de RICHARD modifié permet d'observer cette différenciation qui n'est pas possible, en revanche, avec les milieux de Czapek-Dox et peptone-dextrose. — 4. *In vivo* une corrélation semble pouvoir être établie entre l'activité protéolytique et le pouvoir pathogène des *Sclerotinia*. Ces champignons ont en effet la propriété originale d'abaisser le pH des milieux de culture ou des tissus parasités, jusqu'à la valeur la plus favorable à l'activité de leurs propres protéases.

INTRODUCTION

Le *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary et le *S. minor* Jagger agents de pourritures molles de fruits et légumes, aussi bien en culture que lors du stockage, produisent différentes enzymes hydrolytiques : cellulases (CALONGE et al., 1969; LUMSDEN, 1969), polygalacturonases et pectineméthylesterase (ECHANDI et WALKER, 1957; CALONGE et al., 1969; HANCOCK, 1966; LUMSDEN et DOW, 1970), hemicellulases (HANCOCK, 1967); phosphatidases (LUMSDEN, 1970).

Ces enzymes joueraient un rôle important lors de la pathogenèse et dans l'apparition de symptômes particuliers.

Cependant il ne semble pas que les enzymes protéolytiques aient reçu une attention suffisante, bien que leur rôle dans la pathogenèse puisse être considérable. En effet les parois des cellules végétales de plantes supérieures, et notamment la lamelle moyenne, contiennent des protéines (GINZBURG, 1961; NEW-

* Laboratoire de pathologie végétale, Université Pierre et Marie Curie, tour 53, 4 Place Jussieu, 75230 Paris Cédex 05.

Source : MNHN, Paris

COMB, 1963; LAMPORT, 1965).

Nous avons tout d'abord cherché à mettre en évidence pour les deux *Sclerotinia* l'aptitude à produire des protéases en culture sur milieux artificiels et dans les tissus malades, afin d'associer éventuellement des activités particulières au pouvoir pathogène de certains isolats.

En outre, il est peut-être possible de différencier les deux champignons selon leur activité enzymatique propre.

Les deux *Sclerotinia* étudiés possèdent, en effet, des caractéristiques biologiques et morphologiques très voisines et sont considérés par certains auteurs (PURDY, 1955; WALKER, 1969; MORALL et al., 1972) comme des variétés ou des formes spéciales d'une seule et unique espèce : *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. Cependant KEAY (1939), VIENNOT-BOURGIN (1949), LOUVET et DUMAS (1958), WILLIAMS et WESTERN (1965) etc. les considèrent comme des espèces différentes en utilisant des critères de différenciation physiologiques et morphologiques.

Nous les avons identifiés dans notre travail par la taille des sclérotes, nettement plus petits dans le cas de *S. minor*. Les apothécies, les asques et ascospores ont en effet des dimensions très comparables dans les deux cas. On peut donc envisager de comparer les isolats de ces deux champignons, afin d'y retrouver éventuellement des différences spécifiques.

Dans ce travail dix-huit combinaisons hôte-isolat (3 × 6) ont été utilisées.

Tableau 1

N°	Isolats Code	Hôte origine de l'isolat	Origine géographique
1	Sm-LT	Laitue	France
2	Sm-LZ	Luzerne	Université de Californie
3	Sm-T	Tournesol	Iran
4	Ss-T_1	Tournesol	France
5	Ss-T_2	Tournesol Var. INRA 6501	France
6	Ss-T_3	Tournesol Var. ISSANKA	France

Origine des isolats de *Sclerotinia* spp. Sm : *Sclerotinia minor*; *Ss : Sclerotinia sclerotiorum*.
(Les isolats 1, 3, 4, 5 et 6 nous ont été obligeamment communiqués par Monsieur le Professeur VIENNOT-BOURGIN).

Source : MNHN, Paris

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Trois isolats de *S. sclerotiorum* et trois autres du *S. minor* ont été obtenus à partir de tournesol, luzerne, et laitue attaqués par ces parasites (cf. tableau 1). L'isolement est pratiqué à partir des sclérotes récoltés sur les plantes malades, et désinfectés superficiellement.

Trois plantes hôtes sont utilisées, céleri rave var. «De Rueil», concombre var. «Vert long maraîcher» et carottes var. «Touchon».

Pour l'étude de la production de protéases en culture pure les milieux utilisés sont ceux de Richard, Czapek-Dox, et peptone-dextrose. Dans les deux premiers milieux on a substitué au KNO_3 et $NaNO_3$, comme seule source d'azote, de la gélatine à la concentration de 1%. Les concentrations de saccharose et glucose sont réduites à 1%. Ces milieux modifiés, contiennent par litre d'eau distillée, 10g de Gélatine (2 premiers milieux), et les substances suivantes :

«Richard» : KH_2PO_4 5g, $MgSO_4.7H_2O$ 2,5g, $FeCl_3$ 20mg, Saccharose 10g.
Czapek-Dox : K_2HPO_4 1g, $MgSO_4.7H_2O$ 0,5g, KCl 0,5g, $FeSO_4.7H_2O$ 10mg, Glucose 10g.
Peptone-dextrose : KH_2PO_4 1g, $MgSO_4.7H_2O$ 0,5g, Peptone 5g, et Dextrose 10g, Sulfate de Streptomycine 100mg.

Le pH de tous les milieux est ajusté à 6,0 avec HCl ou NaOH selon le cas, avant autoclavage. Chaque Erlenmeyer (250ml) contient 40ml de milieu. Après stérilisation à 120° pendant 15mn et refroidissement, les flacons sont ensemencés avec un implant de 5mm de diamètre prélevé dans le mycélium frontal de cultures âgées de 4 jours (PDA à 20°C). Les cultures sont ensuite placées sur un agitateur rotatif «NBC G2» à 100 tours/mn. Le mycélium et les sclérotes sont récoltés 10 jours après l'inoculation, par filtration sur des filtres «Millipores» séchés à 80° durant 24h. Après plusieurs lavages à l'eau distillée le mycélium et les sclérotes sont séchés à 80° pendant 24h et pesés. Les filtrats, après mesure du pH, sont utilisés directement comme préparations enzymatiques.

Pour la recherche des activités protéolytiques dans les tissus infectés, on procède tout d'abord à une stérilisation superficielle des organes végétaux (hypochlorite de soude à 12° pendant 10 à 15mn, puis lavages à l'eau stérile). On pratique des tranches de 5mm d'épaisseur que l'on introduit ensuite dans des boîtes de Pétri. Toutes ces opérations s'effectuent d'une manière stérile. L'inoculation est pratiquée par dépôt d'un implant (cf. *supra*) au centre de chaque tranche de tissu végétal. L'inoculation s'effectue à 21°C ± 1.

Après 10 jours on évalue le poids, et on mesure le pH des tissus infectés. Pour l'étude des activités protéolytiques au cours de la pathogenèse, seule la carotte a été utilisée comme substrat. Les mesures sont pratiquées après 2, 4, 6, 8, et 10 jours.

Source : MNHN, Paris

Les tissus infectés sont homogénéisés avec une quantité égale d'extracteur (tampon citrate-phosphate pH 7,0, NaCl 10%) avec l'appareil « VIRTIS 23 » pendant 5 mn à vitesse maximale. Dans quelques cas une première homogénéisation est réalisée avec le mixer « Waring Blendor » avant d'opérer comme il est décrit ci-dessus. La pulpe obtenue est alors centrifugée à 7500 g durant 20 mn. Une deuxième centrifugation est parfois nécessaire pour obtenir un surnageant clair. Le surnageant est alors conservé à - 25°C jusqu'à son utilisation. 1 g de préparation enzymatique correspond ainsi à 0,5 g de tissus frais.

La mesure des activités protéolytiques a été effectuée par trois méthodes :

1. DIFFUSION SUR DISQUES DE GÉLOSE (« Cup plate method »).

Cette technique a été décrite et utilisée pour les protéases par DINGLE, REID et SALOMONS (1953) et SZÉCSI (1969) avec la gélatine comme substrat. On ajoute, à chaud, à une solution tampon au pH désiré, 2% de gélose (Difco), 1% de caséine qualité Hammersten (NBC) et enfin 0,01% de merthiolate de sodium pour éviter les contaminations microbiennes, 20 ml de ce mélange sont versés dans chaque boîte de Pétri de 92 mm de diamètre. Des puits de 8 mm de diamètre sont pratiqués dans les disques gélosés avec un perce-bouchon. On y introduit 0,1 ml de chaque préparation enzymatique à étudier; les boîtes ainsi préparées sont portées à une température de 30°C pendant 40 heures. Pour la mesure de l'activité protéolytique, on recouvre d'abord la surface de chaque boîte avec une solution d'acide trichloracétique à 5%, qui précipite les protéines résiduelles non digérées enzymatiquement. On exprime ensuite les dimensions des zones de lyse (dl) par la valeur : D (diamètre total) - 8 (diamètre des puits) = dl (mesure de l'activité protéolytique).

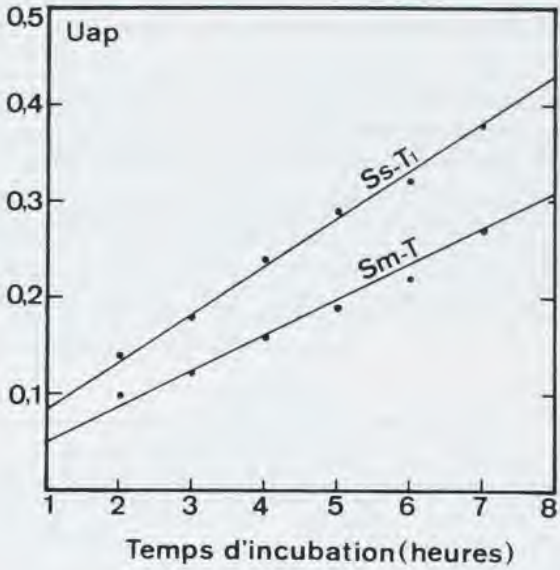
2. MÉTHODE DE KUNITZ (1947).

La caséine à la concentration de 1% est mise en suspension dans une série de tampons de pH 2 à 10 : pH 2 tampon KCl-HCl 0,1 M; pH 3 à 6, tampon citrate-phosphate 0,1 M; pH 7 à9 tampon Tris hydroxyméthylaminométhane-HCl 0,1 M et enfin borate-NaOH 0,1 M pour le pH 10. Ces solutions de tampons sont préparées suivant la méthode de GOMORI (1955).

Un chauffage de 20 mn à 100°C au bain-marie est effectué pour dénaturer la caséine, on ajoute enfin 0,01% de merthiolate de sodium.

1 ml de préparation enzymatique est ajouté à 1 ml de substrat, le mélange est agité constamment à la température de 35°C (Agitateur Gallenkamp). Au temps 0 et après 4 heures d'incubation, on ajoute 3 ml d'acide trichloracétique. Après 40 mn au minimum, le mélange est centrifugé à 6000 g pendant 25 mn. L'absorption du surnageant est mesurée à 280 nm avec un spectrophotomètre Beckman, modèle DU, contre un blanc constitué par l'essai au temps 0. Une variation de 0,1 de densité optique correspond à 0,1 unité d'activité protéolytique. Nous avons vérifié que l'activité protéolytique est proportionnelle au temps d'incubation (Figure 1).

Source : MNHN, Paris



3. TROISIEME MÉTHODE : CHANGEMENTS DE VISCOSITÉ DE SOLUTIONS DE GÉLATINE.

Elle a été décrite originellement par LENNOX et ELLIS (1945) et appliquée par MORIHARA (1962), KEEN et al. (1967), PORTER (1969), REDDY et al. (1971).

3 ml d'une solution tampon de pH 2 à 8 contenant 2 % de gélatine (Touzart et Matignon) sont ajoutés à 3 ml de préparation enzymatique (au même pH). Après introduction dans le viscosimètre d'Oswald (0,84 mm) maintenu à 40°C, on mesure régulièrement le temps d'écoulement du mélange réactionnel; sa diminution est attribuée à l'activité protéolytique (BOMPEIX, 1971 et 1972).

RÉSULTATS

1. MISE EN ÉVIDENCE DES ACTIVITÉS PROTÉOLYTIQUES DANS LES 6 ISOLATS.

Dans une première expérience les 6 isolats sont inoculés à des disques de carotte, céleri et concombre. Les mesures sont pratiquées après 7 jours d'inoculation.

Pour les comparaisons *in vitro* les 6 isolats sont cultivés sur milieu de Richard modifié, durant 15 jours à 23°C ± 1. 100 μl de filtrat de culture sont utilisés pour chaque mesure. Le pH des extraits frais des légumes et fruits est de 5,6

Source : MNHN, Paris

pour le concombre, 6,2 pour la carotte, 6,4 pour le céleri. Le pH est ajusté à 5,5 et ces extraits constituent les témoins « tissus sains ».

Nous mettons donc en évidence l'activité à pH 5,5 non-tamponné par la technique de diffusion sur disque de gélose (Tableau 2). L'activité protéolytique est manifeste pour tous les isolats mais avec des différences considérables. Par ordre d'activité décroissante on trouve en fonction de l'hôte :

carotte $Ss\text{-}T_3 > Ss\text{-}T_2 > Sm\text{-}LZ > Sm\text{-}LT = Ss\text{-}T_1 > Sm\text{-}T$

céleri $Ss\text{-}T_3 = Sm\text{-}LT > Sm\text{-}LZ > Ss\text{-}T_2 > Ss\text{-}T_1 = Sm\text{-}T$

concombre $Sm\text{-}LZ > Ss\text{-}T_3 > Sm\text{-}LT > Ss\text{-}T_2 > Ss\text{-}T_1 > Sm\text{-}T$

In vitro $Ss\text{-}T_3 > Ss\text{-}T_2 > Ss\text{-}T_1 > Sm\text{-}LT = Sm\text{-}LZ > Sm\text{-}T$

Tableau 2

isolats	Activités protéolytiques (dl) *			
	Carotte	Céleri	Concombre	Milieu de Richard modifié
Sm-T	3,0	5,0	4,5	4,0
Sm-LT	6,0	9,0	6,0	7,0
Sm-LZ	7,0	8,5	7,0	7,0
$Ss\text{-}T_1$	6,0	5,0	5,0	8,0
$Ss\text{-}T_2$	8,0	7,0	5,5	9,5
$Ss\text{-}T_3$	11,0	9,0	6,5	11,0

Activités protéolytiques comparées des six isolats *in vivo* et *in vitro* par la technique de diffusion sur disques de gélose (pH 5,5).

* moyenne de 4 mesures. Tissus sains : aucune activité mesurable.

Deux isolats qui donnent plus difficilement des pourritures sur les hôtes utilisés, sont aussi doués d'une faible activité protéolytique ($Ss\text{-}T_1$ et Sm-T). Il existe aussi une assez bonne corrélation avec les essais *in vitro* dans les deux cas, $Ss\text{-}T_3$ est plus actif et Sm-T le moins. Dans l'ensemble les six isolats sont doués d'une forte activité protéolytique.

2. VARIATIONS DE L'ACTIVITÉ PROTÉOLYTIQUE DES DIVERS ISOLATS CULTIVÉS IN VITRO.

A. Comparaison des milieux de Richard et Czapek-Dox modifiés et Peptone-dextrose.

Cinq isolats sont cultivés sur les milieux de Richard, Czapek-Dox (modifiés) et Peptone-dextrose (cf. techniques). Les cultures sont maintenues à 23°C et les mesures pratiquées après 7 jours.

Source : MNHN, Paris

L'activité protéolytique est rapportée au gramme de mycélium et elle est mesurée à pH 7,0 après 4 heures d'incubation. Les résultats sont présentés dans le Tableau 3.

Le pH obtenu est très souvent voisin de 3,0 à 4,0 indépendamment des vitesses de croissance quantitativement très différentes selon les milieux utilisés. Elles sont beaucoup plus régulières sur peptone-dextrose, mais l'activité protéolytique y est assez basse. Les isolats ne se différencient pas sur ce milieu. Par ordre d'activité protéolytique, en fonction des deux milieux modifiés on trouve :

Richard modifié Ss-T_2 > Sm-LT > Sm-LZ > Ss-T_3 > Ss-T_1

Czapek-Dox modifié Sm-LZ > Sm-LT > Ss-T_3 > Ss-T_2 > Ss-T_1

Ss-T_1 se révèle l'isolat toujours le moins actif.

Tableau 3

Isolats	Milieu de Richard modifié			Milieu de Czapek-Dox modifié			Peptone-dextrose		
	pH	Unités A. prot.	Pds. sec.	pH	Unités A. prot.	Pds. sec	pH	Unités A. prot.	Pds. sec
Sm-LT	4,8	3,32	30	4,2	3,2	25	2,9	0,52	113
Sm-LZ	4,5	3,20	25	4,4	4,6	26	2,9	0,74	107
Ss-T_1	3,3	1,90	126	3,4	1,22	130	3,4	0,66	180
Ss-T_2	3,1	3,76	53	2,8	1,78	78	3,3	0,66	150
Ss-T_3	2,8	2,96	54	3,1	2,14	56	3,2	0,64	122

Activités protéolytiques *in vitro* et évolution du pH sur divers milieux (méthode de Kunitz). Activités protéolytiques rapportées au g. de mycélium; poids sec de mycélium exprimé en mg.

B. Activités protéolytiques des 6 isolats selon le pH.

Les six isolats sont cultivés sur milieu de Richard modifié à 23°C et ajusté à pH 6,5 avant autoclavage. Ce milieu s'est avéré en effet favorable à la production de protéases. Après 10 jours d'incubation les filtrats sont utilisés pour la mesure de l'activité protéolytique par la méthode de KUNITZ (cf. techniques). Les filtrats sont utilisés directement comme préparations enzymatiques. Les activités sont aussi rapportées au g de mycélium comme dans les essais précédents, pour pouvoir comparer avec une colonisation de tissus par les parasites.

Dans ces conditions particulières les isolats de *S. sclerotiorum* sont très nettement plus actifs. Cependant la comparaison est établie en début de culture, (6 à 10 jours). L'action du pH à ce moment a été comparée selon les isolats. Ces derniers répondent tous de la même manière. Les pH 3-4 représentent

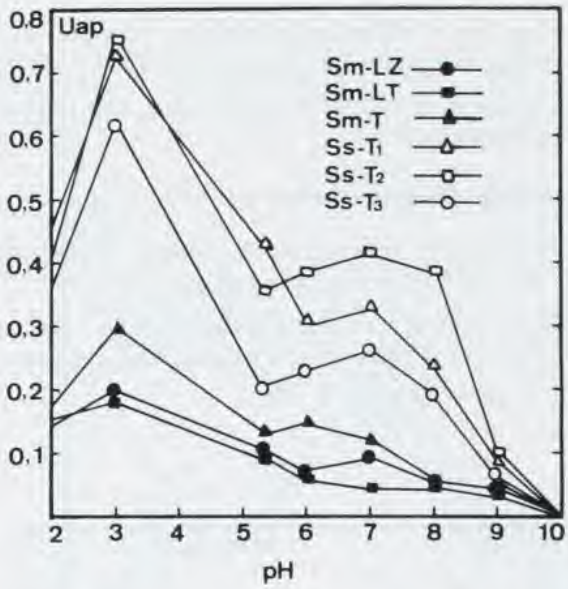
Source : MNHN, Paris

Isolats	pH en fin de culture et poids de mycélium en mg (Pds) *						Unités d'activité protéolytique							
	6 jours		10 jours		16 jours		pH des solutions tamponnées							
	pH	Pds	pH	Pds	pH	Pds	2	3	5,5	6	7	8	9	10
Sm-T	4,4	27	4,0	32	4,5	25	5,31	9,06	4,06	4,37	3,75	1,56	1,25	0,0
Sm-LT	4,0	26	4,2	25	4,5	24	6,00	6,80	3,20	2,00	1,60	1,60	1,20	0,0
Sm-LZ	3,8	32	3,5	26	4,2	26	5,38	7,30	3,84	2,30	3,07	1,92	1,53	0,0
Ss-T_1	4,0	62	2,5	147	2,8	470	2,90	4,89	2,85	2,04	2,17	1,76	0,54	0,0
Ss-T_2	3,2	50	2,7	303	2,7	471	1,32	2,47	1,15	1,25	1,35	1,25	0,10	0,0
Ss-T_3	3,2	42	2,5	244	3,1	275	1,43	2,50	0,81	0,90	1,02	0,73	0,20	0,0

Culture des six isolats de *Sclerotinia* spp. sur milieu de Richard modifié. Activités protéolytiques rapportées au g. de mycélium après 10 jours de culture

* moyenne de deux mesures.

Source : MNHN, Paris



la zone optimale d'activité (Figure 2 et Tableau 4) après 6 à 10 jours de culture le *S. sclerotiorum* continue une croissance extrêmement active qui contraste avec celle du *S. minor*.

Si l'on rapporte les activités au g de mycélium, le *S. minor* se montre beaucoup plus actif que le *S. sclerotiorum*. Le résultat est alors inversé. Ces observations seront importantes pour comparer avec les résultats obtenus *in vivo*.

3. VARIATION DE L'ACTIVITÉ PROTÉOLYTIQUE DES DIVERS ISOLATS IN VIVO.

A. pH des tissus infectés.

Le pH dans les tissus pourris a été mesuré après un temps fixe de 10 jours après l'inoculation.

Le *S. minor* aboutit à un pH très voisin de celui observé avec le *S. sclerotiorum* dans les tissus infectés (Tableau 5).

Tableau 5

Isolats	Carotte	Céleri	Concombre
Sm-LT	3,7	3,5	3,9
Sm-LZ	3,4	3,6	4,0
Ss-T_2	3,9	3,8	4,0
Ss-T_3	3,7	3,6	3,8

pH des tissus infectés après 10 jours d'incubation à 23° ± 1.

Source : MNHN, Paris

Dans tous les cas une acidification notable est observée, explicable par la production bien connue d'acides organiques par ces espèces (VEGA et al., 1970).

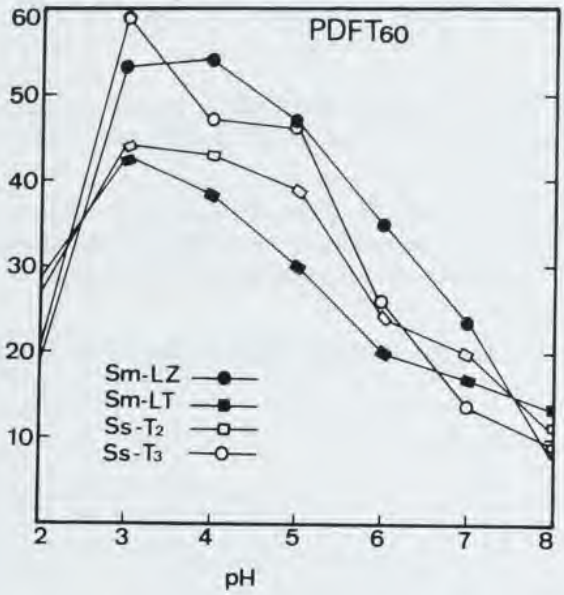
La culture des parasites sur les trois hôtes utilisés fait apparaître une acidification moins importante qu'*in vivo*.

B. Activité protéolytique selon le pH.

L'activité protéolytique est mesurée par la méthode viscosimétrique à partir de tissus infectés de céleri après 10 jours d'incubation à 23 ± 1°C (Figure 3).

Pour les 4 isolats l'activité est maximale à pH 3,0. Les espèces ne semblent pas pouvoir être différenciées puisque l'ordre décroissant d'activité est :

Sm-Lz > Ss-T_3 > Ss-T_2 > Sm-LT

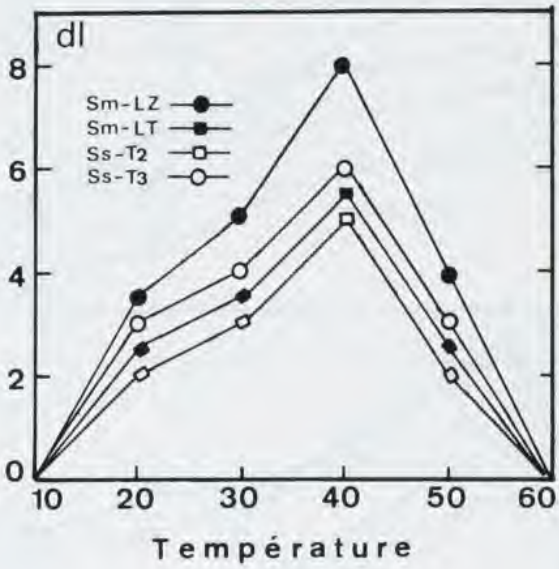


C. Effet de la température sur l'activité protéolytique.

L'effet de la température a été apprécié par la méthode de diffusion sur disque de gélose. L'activité est maximale à 40°C, nulle à 60°C et décroît rapidement pour devenir très faible à 10°C (Figure 4).

Il est donc possible, selon les techniques, d'utiliser les températures de 30 à 40°C.

Source : MNHN, Paris



D. Comparaison de l'activité protéolytique de quatre isolats sur trois hôtes différents.

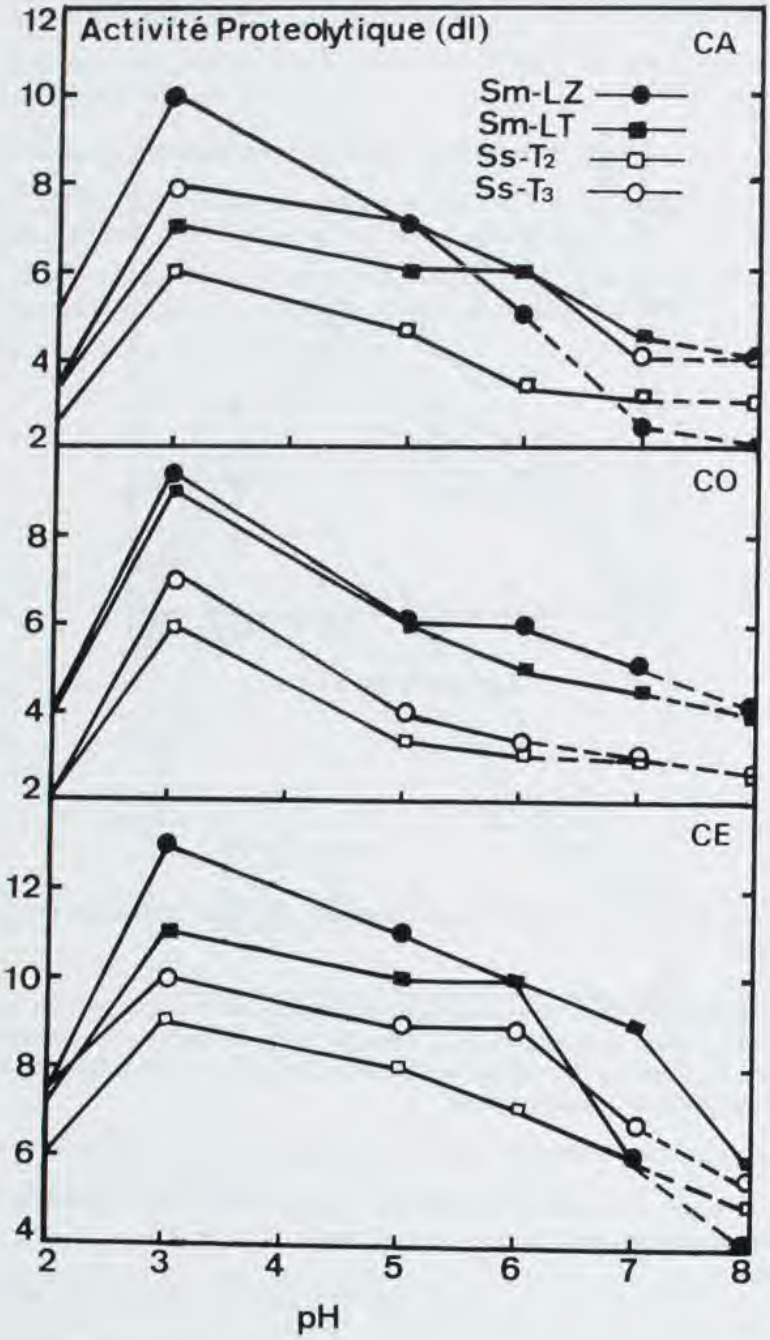
4 isolats déjà utilisés dans les essais précédents sont inoculés sur des disques de carotte, céleri et concombre. Après 10 jours de culture on compare les activités en fonction des hôtes, des isolats et du pH, avec les méthodes de diffusion sur gélose et viscosimétrique.

Avec la première méthode l'activité est toujours maximale à pH 3,0.

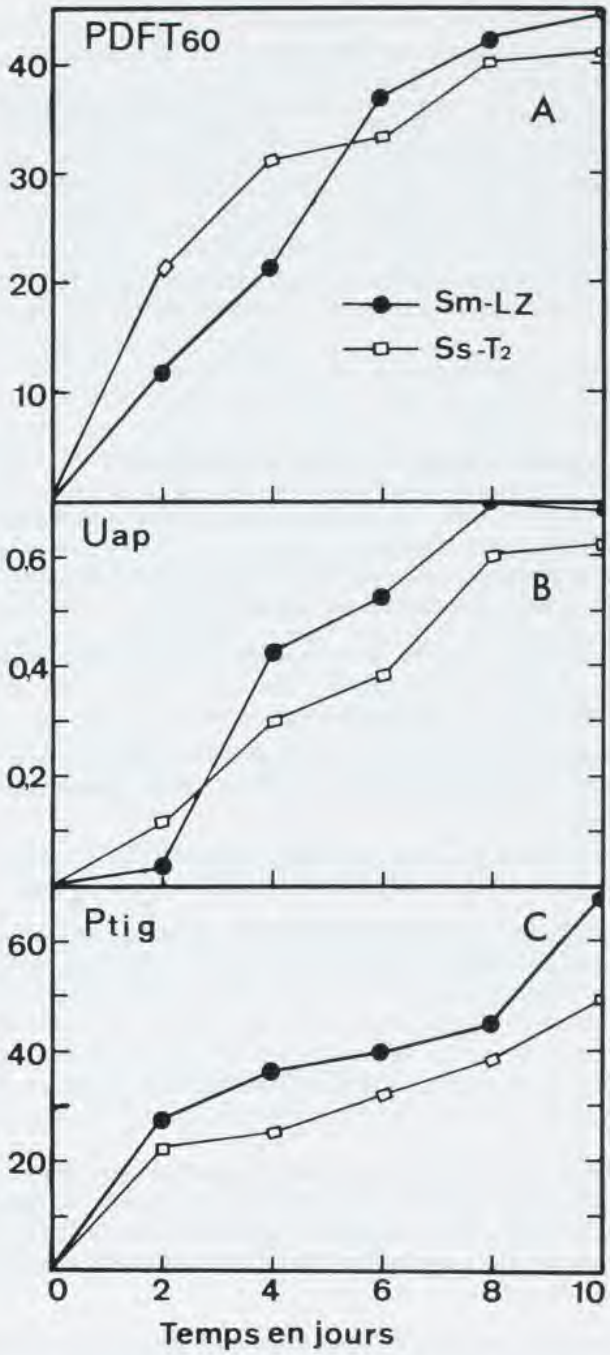
Le *S. minor* se montre très nettement plus actif que le *S. sclerotiorum* sur concombre et céleri mais pas sur carotte (Planche 1 et Fig. 5).

Une comparaison avec la seconde méthode (Tableau 6) ne fait pas apparaître de différences significatives à l'exception du concombre. La comparaison va cependant toujours dans le même sens : celui d'une activité supérieure du *S. minor* (Tableau 6).

Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris

Tableau 6

Isolats	Carotte	Céleri	Concombre
Sm-LT	48,5	38,8	50,0
Sm-LZ	46,6	53,8	45,5
Ss-T_2	41,6	43,1	27,5
Ss-T_3	48,2	47,3	35,4

Activités protéolytiques des 4 isolats, pH 4,0 (PDFT pour t = 60 nm).

E. Activités protéolytiques au cours de la pathogenèse.

La carotte a été choisie comme hôte sensible. Deux isolats (Sm-LZ et Ss-T_2) ont été utilisés pour mettre en évidence les différences possibles de leurs activités protéolytiques et pathogéniques. Deux méthodes de mesures sont utilisées : celle de Kunitz et la méthode viscosimétrique.

L'activité mesurée dans les tissus malades s'accroît au cours de l'extension de l'infection (Figure 6). Nulle dans l'hôte sain, elle est déjà notable 2 jours après l'inoculation dans les premières nécroses provoquées.

Sur un même substrat de mesure (caséine ou gélatine) lors du début de la pathogenèse, l'activité protéolytique du *S. sclerotiorum* est supérieure à celle du *S. minor*.

Au cours du développement ce résultat s'inverse, le *S. minor* devient plus actif que le *S. sclerotiorum*, résultat déjà obtenu sur zones de lyse.

La faible différence entre les deux espèces montre cependant que le *S. minor* est plus pathogène mais aussi plus actif.

DISCUSSION

Des renseignements très succincts sont fournis au sujet des activités protéolytiques des parasites par les ouvrages les plus récents de phytopathologie (WOOD, 1967; GOODMAN, KIRALY et ZAITLIN, 1967; BYRDE et CUTTING, 1973). Ces auteurs concluent cependant à l'importance des recherches à envisager dans cette direction.

Les premiers travaux ont surtout concerné les bactéries, comme *Erwinia carotovora*, qui provoque une protéolyse de la gélatine et de la caséine (FRIEDMAN, 1962).

Source : MNHN, Paris

Quant aux champignons, le *Cladosporium cucumerinum* produit des protéases dans les tissus infectés, les tissus sains restant sans activité (KUC, 1962); il en est de même pour le *Stemphylium botryosum* et le *Colletotrichum trifolii* sur luzerne (HANCOCK et MILLAR, 1965).

Toutes les enzymes mises en évidence sont plus actives en milieu neutre ou alcalin. PORTER (1966) a surtout utilisé les pH 7,0 et 7,5 pour la mesure des protéases. En 1969, il utilise le pH 6,8 sur caséine et 7,5 pour la gélatine (*Colletotrichum orbiculare*). VENETTEN et BATEMAN (1965) utilisent le pH 7,6 pour rechercher l'activité protéolytique du *Rhizoctonia solani* sur hypocotyles du haricot. HANCOCK et MILLAR (op. cit.) utilisent aussi le pH alcalin (7,5) pour l'essai d'activité protéolytique.

1. – Les *Sclerotinia sclerotiorum* et *S. minor* sont doués d'une très forte activité protéolytique mesurable aussi bien sur la caséine que sur la gélatine à des pH acides. Les trois méthodes utilisées, diffusion sur disque de gélose, viscosimétrie de solutions de gélatine, et méthode de Kunitz ont permis de réaliser des mesures sans difficulté.

2. – Les *Sclerotinia* sont producteurs d'acides organiques (VEGA et al, 1970). Ils provoquent une acidification des milieux de culture plus poussée (pH voisin de 3,0) que sur tissus infectés : 3,4 à 3,9 sur carotte; 3,5 à 3,8 sur céleri; 3,8 à 4,0 sur concombre.

3. – Pour les enzymes obtenues, le pH optimum d'activité mesuré est voisin de 3,0. Il semble que ce soit la première fois que l'on mette en évidence chez les agents pathogènes des activités protéolytiques favorisées par un tel pH. On connaît cependant des champignons non-pathogènes actifs dans les mêmes conditions : *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Paecilomyces* sp., *Rhizopus* sp., etc. cités par SODEK et HOFMANN (1970).

4. – D'autres espèces dont les protéases sont actives en milieu alcalin comme le *Sphaeropsis malorum* (BOMPEIX et POIRET, 1974), le *Colletotrichum lagenarium* (ESQUERRE-TUGAYE, 1972) parasitent des tissus de fruits dont le pH est très bas. Le lien avec le pouvoir pathogène est donc sûrement beaucoup moins net que dans le cas des *Sclerotinia* qui sont capables de par leur sécrétion d'acides organiques de réaliser un pH dans le complexe hôte-parasite qui est justement situé à l'optimum d'activité de leurs propres protéases.

5. – Le lien avec le pouvoir pathogène semble établi par le fait qu'avec le seul isolat dont l'activité est très faible, il est difficile d'inoculer avec succès des fragments végétaux; Ss-T_3 peut-être opposé à Sm-T par exemple. Les différences entre les autres isolats sont trop faibles pour établir des corrélations avec la virulence.

Selon les milieux de culture, les différences entre les isolats sont plus ou moins importantes. Cependant la croissance du *S. minor* s'accompagne d'une activité protéolytique plus intense que pour le *S. sclerotiorum*.

Source : MNHN, Paris

Ce résultat semble confirmé *in vivo* mais seulement sur des lésions bien développées. En effet sur carotte, si le *S. minor* paraît constamment plus pathogène que le *S. sclerotiorum*, son activité protéolytique est plus faible dans les jeunes lésions mais plus forte dans les lésions âgées.

6. – L'effet de la température est important à considérer. En effet en dessous de 10°C, les attaques parasitaires sont de peu d'efficacité et les protéases peu actives. L'optimum pour la pathogenèse se situant vers 20° (WALKER, 1952), l'optimum théorique d'action de l'enzyme est élevé, 40°; il est toutefois plus faible que pour le *Colletotrichum lagenarium* situé à 50° (ESQUERRE-TUGAYE loc. cit.). Cependant ces températures ne permettent pas la croissance mycélienne, 30° étant un maximum pour les *Sclerotinia*.

7. – La différenciation des isolats par leur activité protéolytique dépend des modes d'obtention des préparations enzymatiques.

In vitro la culture sur les trois milieux utilisés ne permet pas d'opérer des différenciations dans les concentrations en protéases. Sur peptone-dextrose les résultats sont très voisins pour tous les isolats; ils sont irréguliers sur les deux autres milieux de culture (Czapek-Dox et Richard). Cependant ce dernier milieu permet de très bien séparer le *S. minor* du *S. sclerotiorum* par la quantité de mycélium obtenu. Les deux espèces se distinguent très nettement par leur croissance *in vitro* sur milieu de Richard modifié après 16 jours de culture. En effet le poids sec de *S. sclerotiorum* varie de 275 à 471 mg alors que celui du *S. minor* n'est que de 24 à 26 mg.

Les résultats sont en accord avec les observations de VIENNOT-BOURGIN (1949) et de LOUVET et DUMAS (1958) qui concluent à l'existence d'espèces nettement séparées.

Il est intéressant de remarquer que le *S. minor* se distingue du *S. sclerotiorum* et du *S. trifoliorum* (formant de très gros sclérotes) en ce qui concerne les modalités de la croissance mycélienne et de la formation des sclérotes (WILLETTS et WONG, 1971; WILLETTS, 1972). En outre, WONG et WILLETTS (1973) dans une récente étude électrophorétique des protéines solubles produites par les trois *Sclerotinia*, ont montré qu'il s'agit d'espèces différentes les unes des autres.

In vivo, sur le concombre nous observons une activité plus forte pour le *S. minor* (viscosimétrie). Sur carotte et céleri cette même différence est retrouvée (diffusion sur gélose).

La mesure des activités *in vivo*, aux pH 3 à 7 montre constamment que les isolats Sm-LT et Sm-LZ sont nettement plus actifs que les isolats Sm-T_2 et Ss-T_3 notamment à pH acide. L'ordre décroissant des activités est le suivant :

Sm-LZ > Sm-LT > Ss-T_3 > Ss-T_2

Le *S. minor* semble donc se différencier du *S. sclerotiorum* par une activité protéolytique nettement plus importante, contradictoire avec les résultats *in vitro*.

Source : MNHN, Paris

La comparaison des hôtes fait apparaître que l'activité protéolytique est la plus forte à pH 3,0 sur le céleri.

Cependant avec la technique viscosimétrique aucune différence significative ne peut être observée entre les hôtes et les isolats avec l'exception du concombre où le *S. minor* semble plus actif que le *S. sclerotiorum*.

Dans un travail récent, SWINBURN (1973) a envisagé le rôle des protéases comme inducteurs de phytoalexines chez les pommes, notamment l'accroissement du taux benzoïque. La présence des protéases dans ce cas aboutirait à la résistance, mais selon FISCHER et al. (1973) il existe des protéines inhibitrices des endo-polygalacturonases dans les parois végétales. Le rôle des protéases serait ainsi expliqué par leur effet anti-inhibiteur.

Cette interprétation montre alors que les espèces douées à la fois d'activités protéolytiques et endo-PG seraient pathogènes (cas des *Sclerotinia*). Ce résultat a déjà été observé par l'un d'entre nous sur les *Pezicula* spp., parasites des pommes où les activités endo-PG, endo-PMG et protéolytiques semblent plus particulièrement liées au pouvoir pathogène (BOMPEIX, 1972).

Le modèle d'étude choisi, *Sclerotinia*-plantes maraîchères, paraît utile pour vérifier les hypothèses ainsi avancées sur le rôle exact, et peut-être varié, des protéases au cours de la pathogenèse.

REMERCIEMENTS

Nous remercions vivement Monsieur le Professeur VIENNOT-BOURGIN de nous avoir communiqué la plupart des isolats utilisés dans cette étude et d'avoir bien voulu nous conseiller lors de la rédaction de cet article.

BIBLIOGRAPHIE

BOMPEIX G., 1971 – Activités enzymatiques *in vivo* et pouvoir pathogène des *Pezicula* spp. parasites de pommes. *Ann. Phytopathol.* 3, 4 : 528.

BOMPEIX G., 1972 –Recherches sur la biologie du *Pezicula alba* Guthrie. Thèse de doctorat d'état ès sciences naturelles, 232 p., Paris.

BOMPEIX G. & POIRET B., 1974 – Production d'enzymes pectinolytiques, cellulolytiques, de protéases, et de xylanases par le *Sphaeropsis malorum* Peck, cultivé sur parois végétales. *C. R. Ac. Sc.* 279 : 275-278.

CALONGE F. D., FIELDING A. H., BYRDE R. J. W., AKINREFON O. A., 1969 – Changes in ultrastructure following fungal invasion and the possible relevance of extracellular enzymes. *J. Exp. Bot.* 20 : 350-357.

Source : MNHN, Paris

DINGLE J., REID W. W., SOLOMONS G. L., 1953 – The enzymic degradation of pectin and other polysaccharides. II. Application of the « cup-plate » assay to the estimation of enzymes. *J. Sci. Food. Agric.* 4 : 149-155.

ECHANDI E., WALKER J. C., 1957 – Pectolytic enzymes produced by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Phytopathology* 47 : 303-306.

ESQUERRE-TUGAYE M. T., 1972 – Activité protéolytique et pathogenèse dans l'anthracnose du melon. *Ann. Phytopathol.* 4, 3 : 277-284.

FISHER M. L., ANDERSON A. J., ALBERSHEIM P., 1973 – Host-Pathogen Interactions VI. A single plant protein efficiently inhibits endo-polygalacturonases secreted by *Colletotrichum lindemuthianum* and *Aspergillus niger*. *Plant Physiol.* 51 : 489-491.

FRIEDMAN B. A., 1962 – Physiological differences between a virulent and a weakly virulent radiation-induced strain of *Erwinia carotovora*. *Phytopathology* 52 : 328-332.

GINZBURG B. Z., 1958 – Evidence for a protein component in the middle lamella of plant tissue : a possible site for indolyl acetic acid action. *Nature* 181 : 398-400.

GINZBURG B. Z., 1961 – Evidence for a protein gel structure crosslinked by metal cations in the intercellular cement of plant tissue. *J. Exp. Bot.* 12 : 85-107.

GOMORI G., 1955 – Preparation of buffers for use in enzyme studies. *In* S. P. COLOWICK and N. O. KAPLAN (ed.) *Methods in enzymology* Vol. I : 138-146, Academic Press, N. Y.

GOODMAN R. N., KIRALY Z., ZAITLIN M., 1967 – *The Biochemistry and Physiology of Infectious Plant Disease*. D. Van Nostrand Company, Inc. Princeton-Toronto-London p. 354.

HAGIHARA B., 1960 – Bacterial and mold proteases. *In* P. D. BOYER and K. MYRBACK (ed) *The enzymes* (2nd ed.) Vol. IV, p. 193-213, Academic Press, N. Y.

HANCOCK J. G., MILLAR R. L., 1965 – Association of cellulolytic, proteolytic, and xylolytic enzymes with southern anthracnose, spring black stem and *Stemphylium* leaf spot of alfalfa. *Phytopathology* 55 : 356-360.

HANCOCK J. G., 1966 – Degradation of pectic substances associated with pathogenesis by *Sclerotinia sclerotiorum* in sunflower and tomato stems. *Phytopathology* 56 : 975-979.

HANCOCK J. G., 1967 – Hemicellulose degradation in sunflower hypocotyls infected with *Sclerotinia sclerotiorum*. *Phytopathology* 57 : 203-206.

KEAY N. A., 1939 – A study of certain species of the genus *Sclerotinia*. *Annals of Applied Biology* 26 : 227-246.

KEEN N. T., WILLIAMS P. H., WALKER J. C., 1967 – Characterization of protease produced by *Pseudomonas lacrymans*. *Phytopathology* 57 : 257-262.

KUC J., 1962 – Production of Extracellular Enzymes by *Cladosporium cucumerinum*. *Phytopathology* 52 : 961-963.

KUC J., WILLIAMS E. B., 1962 – Production of proteolytic enzymes by four pathogens of apple fruit. *Phytopathology* 52 : 739 (Abstr.).

KUNITZ M., 1947 – Crystalline soybean trypsin inhibitor. II. General properties. *J. Gen. Physiol.* 30 : 291-310.

LAMPORT D. T. A., 1965 – The protein component of primary cell walls. *Adv. bot. Res.* 2 : 151-218.

LENNOX F. G., ELLIS W. J., 1945 – Euphorbain, a protease occuring in the latex of the weed *Euphorbia lathyris*. *Biochem. J.*, 39 : 465-470.

LOUVET J., DUMAS M., 1958 – Contribution à l'étude des agents de pourriture de la laitue en culture hâtée ou forcée. *Annales des Epiphyties* 2 : 211-241.

LUMSDEN R. D., 1969 – *Sclerotinia sclerotiorum* infection of Bean and the Production of Cellulase. *Phytopathology* 59 : 653-657.

Source : MNHN, Paris

LUMSDEN R. D., 1970 – Phosphatidase of *Sclerotinia sclerotiorum* produced in Culture and in Infected Bean. *Phytopathology* 60 : 1106-1110.

LUMSDEN R. D., DOW R. L., 1970 – Polygalacturonase production by *Sclerotinia sclerotiorum* in young cultures and in bean tissue during the early stages of pathogenesis. *Phytopathology* 60 : 1301 (Abstr.).

MORIHARA K., 1962 – Studies on the protease of *Pseudomonas*. Part VIII. Proteinase productions of various species, especially *P. aeruginosa*. *Agr. Biol. Chem.* (Tokyo), 26 : 842-847.

MORRALL R. A., DUCZEK L. J., SHEARD J. W., 1972 – Variations and correlations within and between morphology, pathogenicity, and pectolytic activity in *Sclerotinia* from Saskatchewan. *Canadian Journal of Botany* 50 : 767-786.

NEWCOMB E. H., 1963 – Cytoplasm-cell wall relationship. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 14 : 43-64.

PORTER F. M., 1966 – Protease activity in diseased fruits. *Phytopathology* 56 : 1424-1425.

PORTER F. M., 1969 – Protease, cellulase and differential localization of endo-exopolygalacturonase in conidia and conidial matrix of *Colletotrichum orbiculare*. *Phytopathology* 59 : 1209-1213.

PURDY L. H., 1955 – A boarder concept of the species *Sclerotinia sclerotiorum* based on variability. *Phytopathology* 45 : 421-427.

REDDY M. N., STUTTEVILLE D. L., SORENSEN E. L., 1971 – Protease production during pathogenesis of bacterial leaf spot of alfalfa and by *Xanthomonas alfalfae in vitro*. *Phytopathology* 61 : 361-365.

SODEK J., HOFMAN T., 1970 – Microbial acid proteinases. *In Methods in Enzymology*, Vol. XIX (1st ed.), G. E. PERLMANN et L. LORAND éd., p. 372-397, Academic Press, N. Y.

SWINBURNE T. R., 1973 – The resistance of immature Bramley's Seedling apples to rotting by *Nectria galligena* Bres. p. 365-379 *in Fungal Pathogenicity and the Plant's response*, R. J. W. BYRDE and C. V. CUTTING ed., Proceedings of a Symposium held at Long Ashton Research Station, University of Bristol, September, 1971.

SZECSI A., 1969 – Role of cell wall degrading enzymes in *Fusarium* stalk rot of corn. I. *Acta Phytopath. Hung.* 4 : 45-55.

SZECSI A., 1970 – Role of cell-wall degrading enzymes in *Fusarium* stalk rot of corn. II. *In vivo* study of enzyme activities in corn lines artificially infected by *Fusarium roseum* f. sp. *cerealis* var. *graminearum*. *Acta Phytopath. Hung.* 5 : 35-40.

VAN ETTEN H., BATEMAN D. F., 1965 – Proteolytic activity in extracts of *Rhizoctonia* infected hypocotyls of bean. *Phytopathology* 55 : 1285 (Abstr.).

VEGA R. R., CORSINI D., LE TOURNEAU D., 1970 – Non volatile organic acids produced by *Sclerotinia sclerotiorum* in synthetic liquid media. *Mycologia* 62 : 332-338.

VIENNOT-BOURGIN G., 1949 – *Les champignons parasites des plantes cultivées*. Masson Cie, Paris, 1854 p.

WALKER J. C., 1952 – *Diseases of vegetable crops*. Mc Graw-Hill Book Company, Inc. p. 529.

WALKER J. C., 1969 – *Plant pathology*. New York and London, Mc Graw-Hill Book Company.

WILLETTS H. J., WONG A. L., 1971 – Ontogenetic diversity of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* and related species. *Trans. br. mycol. Soc.* 57, 3 : 515-524.

WILLETTS H. J., 1972 – The morphogenesis and possible evolutionary origins of fungal sclerotia. *Biological Reviews* 47 : 515-536.

WILLIAMS G. H., WESTERN J. H., 1965 – The biology of *Sclerotinia trifoliorum* Erikss. and other species of sclerotium-forming fungi. I. Apothecium formation from sclerotia. *Annals of Applied Biology* 56 : 253-260.

Source : MNHN, Paris

WOOD R. K. S., 1967 — *Physiological Plant Pathology* (1st ed.). Blackwell Scientific Publications, Oxford, p. 570.

WONG A. L., WILLETTS H. J., 1973 — Electrophoretic studies of soluble proteins and enzymes of *Sclerotinia* species. *Trans. br. mycol. Soc.* 61, 3 : 167-178.

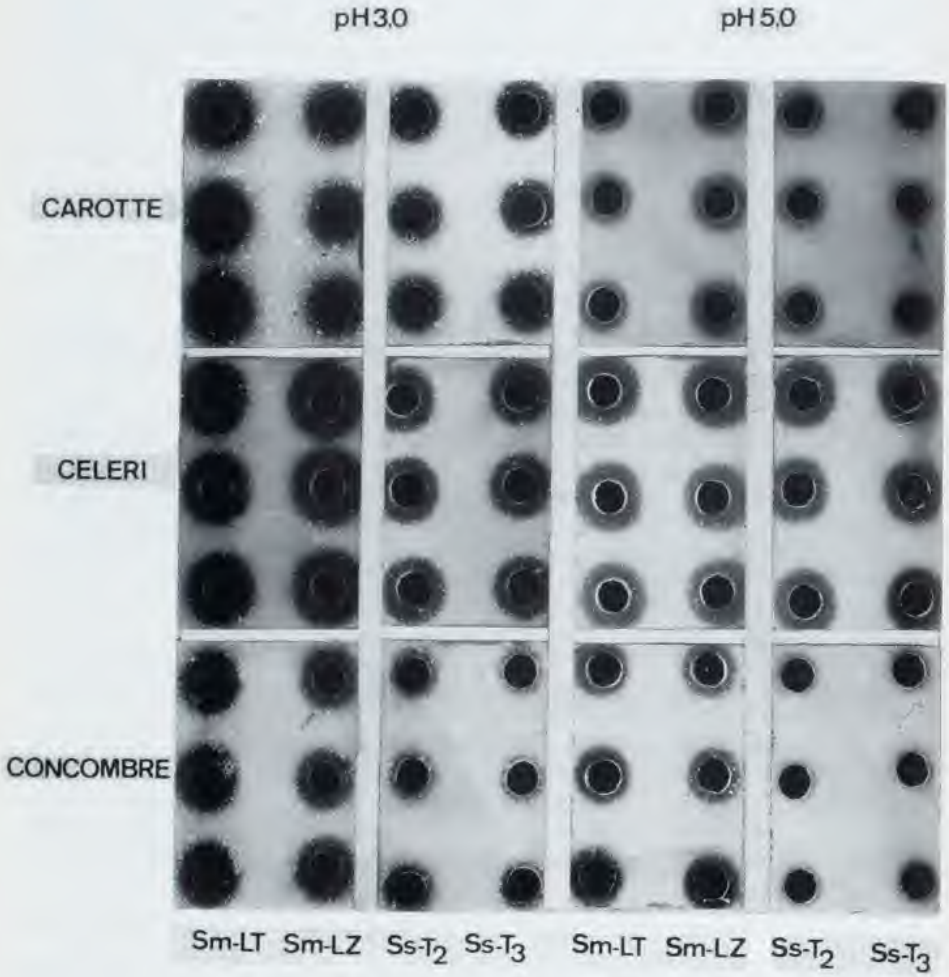


Planche 1. — Activités protéolytiques comparées de quatre isolats sur trois hôtes, mesure par la méthode de diffusion sur disque de gélose.

Source : MNHN, Paris

UN VIEUX LIVRE OUBLIÉ

Qui se sert encore de la Flore de Bigeard et Guillemin ? Elle est, comme on dit, terriblement dépassée, et depuis que nous avons Kühner et Romagnesi, toute la littérature antérieure est tombée dans les ténèbres. Pourtant l'autre jour, en rangeant ma bibliothèque, j'ai repris ces deux volumes, et m'y suis replongé avec délices. Il est vrai que pendant bien longtemps je n'ai rien eu d'autre entre les mains, et que c'est avec cette Flore que j'ai fait mes premières déterminations. Je lui garde donc une sérieuse reconnaissance, et une espèce d'amitié, malgré tous ses défauts.

Ces défauts, je les connais bien. Il y a d'abord le fait désastreux qu'elle soit divisée en deux volumes, l'un comportant les champignons les plus communs, et l'autre les plus rares. C'est dire que sa consultation n'est pas des plus faciles. D'autre part, elle n'a rien d'original, et elle se contente de reproduire les descriptions d'autres auteurs. C'est une énorme compilation faite sans grande critique, et comme le dit René Maire dans sa préface, c'est un travail de bénédictin, qui a demandé une somme de recherches livresques presque inimaginables.

D'autre part, la classification adoptée par les deux auteurs nous semble archaïque. Mais il est vrai aussi qu'elle ne pouvait être que ce qu'elle est, et elle reproduit fidèlement celle de ses contemporains. Une chose est sûre, c'est que tous les mycologues d'un certain âge ont appelé les champignons comme le font Bigeard et Guillemin, et ils n'en sont pas morts. Depuis, nous avons multiplié les genres et subdivisé à l'infini, souvent avec raison, d'autres fois sans trop savoir pourquoi. Je relisais l'autre jour dans Linné qu'il fallait bien se garder de multiplier les genres sur de simples détails de structure, car il faut craindre à la limite que chaque espèce ne devienne un genre. Cette belle mise en garde semble bien négligée aujourd'hui !

Mais le mérite - et le pittoresque de cette Flore - est ailleurs. Le reproche qu'on fait aux auteurs d'avoir empilé toutes les espèces qu'ils ont trouvées dans tous les livres qui les ont précédés est justement leur titre de gloire. En effet, surtout dans le deuxième volume, on découvre des centaines d'espèces qui sont très souvent des fantômes ou des synonymes. Parfois, les descriptions des anciens sont tellement approximatives qu'il est impossible de se figurer l'espèce en question à la lecture. Et bien entendu, les détails microscopiques sont le plus souvent exigus ou complètement passés sous silence.

Source : MNHN, Paris

Il n'empêche que ces descriptions aléatoires peuvent être instructives, et il est probable qu'en cherchant bien, on s'apercevrait que beaucoup de ces espèces méprisées sont en réalité de bonnes espèces, décrites depuis et mieux sous d'autres noms. Et beaucoup d'espèces vraisemblables des anciens auteurs sont maintenant omises dans nos nomenclatures sous prétexte qu'on ne les a jamais revues. Ce n'est pas toujours une raison suffisante. Sans doute, bien souvent, l'espèce en cause n'est qu'une forme aberrante d'une espèce banale; mais il arrive aussi qu'il s'agisse d'une très bonne espèce, et un jour ou l'autre on la retrouvera.

Je songe à une expérience personnelle. Deux années de suite j'ai trouvé un Hygrophore nouveau manifestement, quoique certains l'aient synonymisé avec une autre espèce. Il s'agit d'*H. vaticanus*, absolument caractéristique, qui ressemble à un *Clitopilus prunulus* qui aurait des lames jaunes. Il a été publié, il en existe des exsiccata au Muséum, et je ne l'ai jamais revu depuis. Il est donc très possible que beaucoup d'espèces de Boudier ou de Gillet entre autres, reproduites dans Bigeard et Guillemin, et dont on ne sait que faire, existent sans doute quand même, ou qu'au moins elles aient existé, en attendant qu'un jour ou l'autre on les redécouvre.

Et dans cette Flore, c'est avant tout ces descriptions-là que je savoure. Elles me font entrevoir une Flore imaginaire et ce serait peut-être une étude à entreprendre que de mettre au point la liste «raisonnée» des espèces dont on a décrété qu'elles n'existent pas. Ce serait presque un roman.

Pourtant, il y a plus dans ce livre. Ainsi, les Ascomycètes ont été pour la plupart créés et édités par Boudier. Mais les travaux de Boudier sont en fait inaccessibles. Or Bigeard et Guillemin, en répercutant dans leur livre l'ensemble des descriptions de Boudier ont rendu un service immense. Quant à moi qui suis très mal monté pour cette famille, c'est à ce livre que je dois à peu près toutes mes possibilités de déterminations.

Et regardez par exemple le chapitre qu'ils consacrent aux Morilles. Le premier volume fait état de dix-sept espèces, et le deuxième de vingt-deux espèces ou variétés. Qu'est-ce à dire? Faut-il les prendre au pied de la lettre et essayer de retrouver ce fatras dans la nature? C'est évidemment impossible, et les études «modernes» réduisent les Morilles à une bonne douzaine de formes officielles, en admettant leur extrême polymorphisme, qui fait que bien souvent le plus habile est embarrassé quand il faut absolument donner un nom. Mais justement, dans cette collection de descriptions, on trouvera encore aujourd'hui des choses qui ressemblent à ce qu'on rencontre, et il suffira de rapprocher les détails entrevus pour rapporter les formes énigmatiques aux espèces banales et bien définies. Donc cet effort de définition qui nous semble presque romanesque et dérisoire par son excès même peut quand même rendre service.

Par exemple, le premier volume donne *Morchella elata* comme espèce sûre, et le Complément lui donne trois variétés. D'abord *purpurascens* Kromb. qui présente sur le chapeau ou sur le pied, par place ou entièrement une teinte purpurine caractéristique. Il est permis de croire qu'il s'agit simplement d'un

Source : MNHN, Paris

parasite quelconque qui se trouve être responsable de cette coloration; ensuite *Morchella inamoena* Boud. à côtes noirâtres et à odeur de Scléroderme. Comme le champignon a été envoyé à Boudier du Midi par Barla, il est permis de croire que son odeur a pu se transformer durant le transport. Et puis la variété *eximia*, qui d'après la description pourrait bien être une espèce autonome. En effet, les alvéoles primaires sont très allongés, à peine anastomosés, et avec un pied ocracé, séparé par une vallécule très sensible; des spores aussi beaucoup plus grandes que dans le type.

On me dira que jamais on n'a revu cette forme. Je dirais plutôt qu'on n'a jamais bien regardé. En effet, quand on trouve des Morilles et qu'on les ramasse pêle-mêle dans un panier, il est presque impossible, une fois à la maison, d'en faire le tri et de savoir ce qui appartient à une espèce ou à une autre. Chacune serait justiciable d'un examen microscopique pour acquérir une manière de certitude, et encore, car les Morilles ont de plus la mauvaise habitude d'avoir des spores de taille différente dans un même individu. On finit par comprendre que certains mycologues jettent le manche après la cognée et décrètent qu'il y en a tout au plus quatre ou cinq espèces sûres, et que tout le reste n'est que lusus, formes météoriques ou rêveries.

Mais Bigeard et Guillemin, en nous rapportant toute la documentation écrite sur la matière nous permettent de nous faire d'avance une idée et de connaître sur le papier les pièces du procès.

Et c'est tout de même dans ce complément que j'ai trouvé les descriptions originales de *Boletus junquilleus, reticulatus, pinicola, Dupainii, plorans*, etc. qui m'ont permis mes premières déterminations. Ces descriptions, prises telles quelles chez leurs créateurs, ont rendu de signalés services à des centaines de mycologues. Et où les auraient-ils trouvées au début du siècle ? Les ouvrages de Boudier, de Barla, de Quélet, étaient tous épuisés, et cette remouture de leurs travaux s'est révélée très utile.

Il m'arrive encore d'avoir recours de temps en temps à cette Flore pour déterminer des Polypores, des Stereums, des Clavaires, et d'autres Aphyllophorales, avant de me faire confirmer mes résultats par l'abbé Bourdot. Sans doute faut-il souvent changer de vocabulaire générique, mais actuellement, Bourdot lui-même n'est plus à la mode, et les Polypores ont pris des noms si extraordinaires que la mémoire les refuse absolument. En arriverons-nous au point où notre vieille mycologie dépassera notre faculté de l'aborder et d'assimiler ses nouveaux mystères ? Henri Romagnesi a fait sur ce sujet des réflexions tout à fait désabusées, qui lui sont venues en étudiant de près les *Psathyra* et *Psathyrella*, où la détermination ne peut plus être que génétique et où le déterminateur de bonne volonté se trouve plongé dans des ténèbres « plus que cimmériennes », comme disait déjà Tournefort.

Faut-il conclure ? Je dirai que cette Flore de Bigeard et Guillemin a été un moment de la mycologie française, et que malgré ses défauts, son esprit de compilation sans critique, ses naïvetés, ses espèces fantômes ou synonymes, elle permet encore, quand on sait s'en servir, des approches de détermination

Source : MNHN, Paris

qui ne sont pas sans mérite. Quand je vois combien mon exemplaire est fané et usé sur les bords, je ne peux que lui rendre grâce pour ce qu'il m'a appris et pour le plaisir qu'il m'a donné.

G. Becker

Source : MNHN, Paris

LE COMMANDANT LIGNIER, PEINTRE DE CHAMPIGNONS

J'ai, certes, assez bien connu le Commandant Lignier mais uniquement sur le plan mycologique. Je ne possède donc pas sur sa vie (date et lieu de naissance, carrière militaire, etc.) les données précises qui m'auraient permis de donner de lui une biographie « en forme ». Je ne puis qu'évoquer l'homme, le peintre de champignons.

Le Commandant Lignier était de très grande taille; droit et mince, il paraissait immense. En dépit de cette belle prestance, il connut la blessure d'amour-propre de celui qui, ayant choisi la carrière des armes, dut l'abandonner bien avant l'âge de la retraite pour des raisons de santé : quand je le connus, il était déjà un grand cardiaque.

Son coeur, disait-il plaisamment, lui servait de clinomètre : les routes plates où la Faculté lui recommandait de cantonner ses promenades afin de lui épargner un effort excessif s'avisaient-elles de présenter une pente parfaitement insensible pour tout autre, il en était aussitôt averti !

Lorsque nous fîmes connaissance, le Commandant Lignier qui, je crois, venait de quitter Cherbourg, avait trouvé son point de chute dans une toute petite bourgade de Saône et Loire, Theurey, qui n'était même pas élevée à la dignité de commune.

Il vivait là, avec son épouse et sa fille, offrant volontiers l'hospitalité à ses amis, peu nombreux d'ailleurs car son existence itinérante de militaire de carrière, demeurant peu de temps dans le même lieu, ne lui avait guère permis de tisser beaucoup de liens.

A cet homme encore jeune, privé d'activité professionnelle, à qui l'effort physique était interdit et pourtant trop intelligent pour s'accommoder de l'inaction, il fallait un dérivatif. Il en eut deux.

Tout d'abord, la lecture. A Theurey, dans cette vieille demeure provinciale, aux pièces sombres mais vastes, j'ai découvert une des plus riches bibliothèques qu'il m'ait été donné de rencontrer. Je me souviens, en particulier, de grands *in folio* faisant invinciblement penser aux énormes volumes utilisés dans la bataille du *Lutrin*; c'étaient une série d'oeuvres illustrées par Gustave Doré avec cette verve déchaînée, extravagante, ce débordement imaginatif frisant l'hallucination, qui font reconnaître au premier coup d'oeil un dessin de cet auteur.

Source : MNHN, Paris

Si la lecture était pour le Commandant Lignier un premier dérivatif, la peinture des champignons fut le second, auquel il se consacra de plus en plus exclusivement.

Je ne sais où il avait appris l'art de l'aquarelle mais ce qui est certain c'est qu'il y excellait. Et il n'y excellait pas seulement du point de vue artistique; il y excellait autant et surtout du point de vue mycologique. Je ne pense pas avoir jamais vu de portraits de champignons plus fidèles. Ces derniers sortaient littéralement du papier. Un mycologue me dit un jour en regardant une de ces aquarelles : « Cela sent le champignon ».

L'activité picturale de Lignier fut prodigieuse. Il peignait comme un pommier produit des pommes. Je possède quelques unes de ses planches (doubles qu'il me donnait quand il s'agissait d'un champignon que je lui avais remis). L'une d'elles porte le numéro 4 175 (en 1930) !

Je reçus de ses mains la dernière qui sortit de son pinceau, alors qu'il était sur ce qui, très peu de jours plus tard, devait être son lit de mort (1); elle n'est malheureusement pas numérotée, ce qui eût permis de connaître exactement le nombre de ces aquarelles. On peut l'estimer à environ 4.500.

Ayant rendu hommage à l'étonnante vérité de ces planches qui font, sans aucun doute, du Commandant Lignier un des tout meilleurs peintres de champignons qui aient jamais existé, je dois faire quelques réserves sur l'exactitude des noms attribués par lui aux espèces qu'il portraiturait. Il était, en effet, beaucoup plus peintre que mycologue. Les quelques caractères microscopiques qu'il figurait - pas toujours - au bas de ses planches étaient obtenus avec une optique trop sommaire et une technique trop dépassée par les exigences actuelles pour qu'on puisse en tirer un parti décisif sur le plan de la détermination.

On se prend à déplorer qu'une symbiose n'ait pas été réalisée entre ce très grand peintre et un bon déterminateur qui lui eût fourni du matériel correctement identifié.

Remarquons toutefois que cette heureuse association eut lieu pendant les dernières années de la vie du Commandant Lignier car il vint s'établir à Anse, près de Lyon et il put ainsi avoir des contacts fréquents avec les mycologues de cette ville dont il peignait les trouvailles intéressantes avec une complaisance et même un empressement qui ne se démentaient jamais.

On aura une idée de la qualité de ces aquarelles (pour autant qu'une reproduction puisse témoigner des mérites de l'original) en se reportant aux tomes XLVII et XLVIII du *Bulletin de la Société mycologique de France* où l'on trouvera le portrait de *Lepiota helveola* et de *Rhodotus palmatus*.

Nul doute que les mycologues, fouillant dans la collection des planches du Commandant Lignier, n'y fassent des découvertes pleines d'intérêt. Si l'identification des espèces figurées n'y est possible que par la seule macro-morphologie, celle-ci est si extraordinairement respectée et reproduite qu'elle confère

(1) Il mourut à Anse (Rhône) de la défaillance cardiaque qui le guettait depuis des années.

Source : MNHN, Paris

une valeur considérable à l'une des plus importantes galeries de portraits mycologiques jamais réalisée.

M. Josserand

La collection des aquarelles du Commandant LIGNIER, acquises par le Laboratoire de Cryptogamie grâce à la générosité de la Fondation Singer-Polignac, est conservée à la Bibliothèque Centrale du Muséum National d'Histoire Naturelle. Elle peut y être consultée sur présentation d'une autorisation fournie par le Directeur du Laboratoire de Cryptogamie.

Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

REMARQUES SUR LA THESE DE DOCTORAT
de Monsieur Jacques Fayret (Toulouse) :
Étude du cycle de reproduction du *Gnomonia leptostyla*. Déterminisme et physiologie

Cette très intéressante thèse, récemment soutenue à Toulouse (Université P. Sabatier; 27 novembre 1975), où elle avait été préparée, nous paraît devoir faire l'objet d'une présentation spéciale dans la « Revue de Mycologie », parce qu'elle ne se borne pas à fournir de nouveaux détails sur le Champignon étudié : beaucoup mieux que cela s'y traduit une manière nouvelle d'envisager l'étude des cycles de développement, de sorte qu'elle sera appelée à servir de modèle pour d'autres travaux du même genre, qu'elle pourra donc marquer une date dans leur histoire, et contribuer à une rénovation des recherches en mycologie, que tout le monde aujourd'hui doit désirer.

Cela tient à ce que Monsieur FAYRET a eu constamment le souci, au cours de son travail, de se soumettre aux tendances suivantes :

1. — D'abord, avant d'étudier la physiologie du *Gnomonia*, il s'est efforcé d'en analyser de très près l'organisation, d'une façon très fine, en s'appuyant sur son ontogénie. Confirmant les conceptions acquises au Laboratoire de Cryptogamie de la Sorbonne (actuellement à l'Université Pierre et Marie Curie), il a su distinguer dans le cas des périthèces, par exemple : 1. un archicarpe, avec ascogone et trichogyne; ici, Monsieur FAYRET a obtenu un résultat particulièrement intéressant : il y a hétérothallisme, et fécondation (démontrée expérimentalement) des ascogones par les microconidies, qui sont donc des spermaties; 2. une enveloppe ascothéciale, née de la base de l'archicarpe et gamétophytique; 3. un appareil sporophytique comprenant un pro-sporophyte, qui se transforme en un syncytium produisant l'équivalent de carpospores dicaryotiques, et un asco-sporophyte; 4. enfin des asques avec leurs spores. Le tout forme un véritable organisme complexe, doué d'une organisation précise.

2. — Ensuite, c'est en s'appuyant sur les résultats de cette fine analyse ontogénique et structurale que Monsieur FAYRET a étudié la physiologie du *Gnomonia* et ses besoins écologiques. Cette analyse révèle une succession bien réglée d'évènements physiologiques, assurant l'apparition également successive, des divers constituants du périthèce, ainsi que leur mise en place dans cette fructification. M. FAYRET a donc recherché le déterminisme de ces évènements, ce qui l'a conduit à une analyse physiologique beaucoup plus précise que celle

Source : MNHN, Paris

dont on se contente en général : une analyse portant sur chaque phase de l'ontogénie, et non pas seulement sur celle-ci, envisagée *in toto*. Il a ainsi fait un travail comparable, dans une certaine mesure, à celui des zoologistes étudiant le déterminisme de l'embryologie des animaux, au temps de l'« Entwicklungs Mecanik », ou « embryologie causale ».

3. Ce faisant, il est cependant arrivé à un résultat très différent de celui de cette Embryologie : pour leur formation et leur développement, les divers composants du périthèce ne semblent pas se commander les uns les autres, par des phénomènes d'induction; ils obéissent, indépendamment les uns des autres, aux conditions de milieu (lumière, chaleur, facteurs trophiques), de sorte que, par exemple, une enveloppe ascothéciale peut se développer normalement, même si elle ne contient aucun appareil sporophytique. De plus, chaque composant réagit à sa façon, elle-même variable d'un stade à l'autre. Il en résulte que la succession des stades dont dépend le développement du périthèce, en automne et en hiver, est commandée par la succession des facteurs écologiques au cours de ces saisons.

En conclusion, ce qu'il y a de particulièrement remarquable, et en même temps de particulièrement fructueux dans le travail de Monsieur FAYRET, c'est la finesse des analyses ontogénique et physiologique et leur mise en parallèle d'une façon précise et serrée. Ce dont les futurs auteurs de recherches du même genre devront se souvenir.

Marius Chadefaud

Source : MNHN, Paris

ANALYSES BIBLIOGRAPHIQUES

JONG S. C. & ROGERS J. D. – Illustrations and descriptions of conidial states of some *Hypoxylon* species. *Washington Agric. Exp. St. Techn. Bull.* 1972, 71, 51 p.

Cette publication qui parvient tardivement à notre connaissance concerne 18 espèces et variétés d'*Hypoxylon* cultivées à partir d'ascospores. Les formes conidiennes ainsi obtenues offrent le même mode fondamental de conidiogènèse, de type blastique, à partir de cellules conidiogènes à accroissement sympodial (série *Sympodulosporae* sec. BARRON, 1968). Mais par la forme de l'élément sporogène, par le développement et le mode de ramification des conidiophores, ces appareils conidiens peuvent être répartis en 9 groupes morphologiquement définis, que les auteurs présentent schématiquement en regard des genres connus d'Hyphomycètes de morphologie comparable.

Pour chaque espèce ou variété d'*Hypoxylon* décrite (aspects culturaux et caractères microscopiques), l'attribution de la forme végétative de reproduction à l'un ou l'autre de ces genres de champignons imparfaits est discuté avec plus de précision, en référence aux travaux de nombreux auteurs qu'on trouve cités dans une liste bibliographique d'une soixantaine de titres.

La publication est remarquablement illustrée au trait, et quoiqu'elle concerne à peine le cinquième des espèces d'*Hypoxylon* actuellement décrites, elle offre une solution satisfaisante à quelques uns des multiples problèmes de taxinomie ou de nomenclature posés par les formes conidiennes des *Hypoxylon*. Elle sera appréciée aussi des chercheurs qui, isolant du sol ou du bois un champignon imparfait de type sympodulosporé soupçonnent, sans pouvoir souvent l'établir avec certitude, qu'ils ont affaire à une forme végétative de quelque Xylariacée. – J. Nicot.

MATSUSHIMA T. – Icones Microfungorum a Matsushima lectorum. Kobe, Japon, 1975, 209 p., 415 pl.

On est séduit, dès l'abord, par la présentation extrêmement soignée et la qualité de l'illustration du nouvel album publié par l'auteur japonais. Celui-ci présente 655 espèces de champignons microscopiques (dont 577 sont des Fungi Imperfecti, 65 des Ascomycètes et 13 des Mucorales), récoltés pour la plupart au Japon, certains en Alaska, quelques uns provenant d'échantillons de sols d'origines diverses. Cette flore complète celle des îles Salomon et de Nouvelle-Guinée publiée récemment (1971).

On retrouve ici le même mode de présentation, les mêmes qualités et aussi les mêmes lacunes que dans l'ouvrage précédent. Les espèces sont énumérées

Source : MNHN, Paris

en ordre alphabétique, sans autres divisions systématiques que les très larges coupures précitées. A chacune d'elles sont consacrées 6 à 12 lignes de texte comportant les références systématiques essentielles, l'indication du substrat et, rédigée en latin, la description des caractères macro- et microscopiques du champignon, en culture et éventuellement sur l'hôte naturel. La plupart de ces descriptions renvoient aux illustrations, groupées en plus de 400 planches à la suite du texte. Le plaisir que l'on éprouve à feuilleter ce recueil de dessins au trait d'une clarté et d'une précision remarquables, accompagnés, en nombre plus réduit, d'excellentes photos, ne doit pas nous dissimuler un défaut majeur de l'ouvrage : l'absence de toute clé de détermination et même de tout index. Le seul guide dont le lecteur dispose est la liste des illustrations, avec leurs légendes très succintes. Ainsi il n'est pas d'autre moyen, pour utiliser l'ouvrage, qu'une approche par l'image, qui renvoie à un nom et à une description, lesquels se révèleront satisfaisants ou non; la méthode n'est guère recommandable. Disons cependant, à la décharge de l'auteur, que les illustrations des champignons imparfaits sont, à la différence du texte, et sans d'ailleurs que cela soit précisé, regroupées selon les modalités de leur conidiogenèse; l'utilisateur averti saura ainsi, de lui-même, limiter le champ de ses confrontations.

Quant au contenu systématique, notons que sur 577 espèces de champignons imparfaits, 170 sont présentées comme nouvelles, 17 font l'objet de nouvelles combinaisons, et 7 genres inédits sont proposés. On ne peut s'empêcher de penser qu'un apport aussi considérable à la systématique des micromycètes mériterait des développements plus importants et un examen critique plus sévère. Ainsi le genre *Rhinocladiella* s'enrichit de 6 spp. nov., plus 4 non-identifiées; les *Cladosporium* ont 7 espèces nouvelles; les *Sporidesmium* - le record - 10 spp. nov. et 6 autres indéterminées. Sans doute les régions d'où proviennent ces organismes ont-elles été jusqu'à ces dernières années assez peu explorées, et il n'est pas exclu d'y rencontrer nombre de taxa inédits; mais, pour cette raison précisément, il serait souhaitable de justifier, ou tout au moins de discuter leur insertion dans la flore des micromycètes antérieurement décrits. Quelques exemples pris au hasard nous ont démontré qu'une telle discussion remettrait certainement en cause la position systématique de telle ou telle espèce proposée comme nouvelle.

En atttendant les révisions systématiques qui donneraient toute valeur aux apports originaux de Matsushima, il reste que l'auteur met à notre disposition des documents iconographiques d'une qualité incontestable, illustrant un nombre important de micromycètes. A condition de ne pas se départir d'un esprit critique vigilant et n'excluant pas des réserves sur l'aspect systématique de l'ouvrage, on y aura recours, toujours avec plaisir, souvent avec profit, pour une meilleure connaissance de la flore des micromycètes saprophytes. — J. N.

Commission paritaire 28-XI-1949 N° 5614
Dépôt légal : n° 594 - Juin 1976 - Imp. Vial, 91410 Dourdan

Source : MNHN, Paris